

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA



TESIS DOCTORAL

Sistematización de pruebas de función testicular

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

Basilio Moreno Esteban

DIRECTORES:

J. A. F. Tresguerres
Alberto Oriol Bosch

Madrid, 2015

Basilio Moreno Esteban

TP
1982
-12-1



x-58-045690-5

SISTEMATIZACION DE PRUEBAS DE FUNCION TESTICULAR

Departamento de Fisiología
Facultad de Medicina
Universidad Complutense de Madrid
1982



BIBLIOTECA

Colección Tesis Doctorales. Nº 121/82

© Basilio Moreno Esteban
Edita e imprime la Editorial de la Universidad
Complutense de Madrid. Servicio de Reprografía
Noviciado, 3 Madrid-8
Madrid, 1981
Xerox 9200 XB 480
Depósito Legal: M-16185-1982

BASILIO MORENO ESTEBAN

SISTEMATIZACION DE PRUEBAS DE FUNCION TESTICULAR

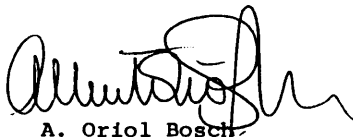
FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID.
AÑO 1.981.

PROFESOR A. ORIOL BOSCH
CATEDRA DE ENDOCRINOLOGIA EXPERIMENTAL
FACULTAD DE MEDICINA - UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
MADRID-3

ALBERTO ORIOL BOSCH, CATEDRATICO DE ENDOCRINOLOGIA
EXPERIMENTAL Y JESUS ANGEL FERNANDEZ TRESGUERRES,
PROFESOR ADJUNTO DEL DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA DE
LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD COMPLU-
TENSE DE MADRID.

CERTIFICAN: Que la tesis realizada por D. BASILIO
MORENO ESTEBAN, sobre: "SISTEMATIZACION
DE PRUEBAS DE FUNCION TESTICULAR", ha
sido llevada a cabo bajo nuestra direc-
ción y en el momento actual, está en
condiciones de ser leída y juzgada.

Y para que conste y surta los efectos
oportunos, expidimos el presente certificado en
Madrid, a siete de julio de mil novecientos ochen-
ta y uno.


A. Oriol Bosch


J.A.F. Tresguerres

DEDICATORIA:

A mi mujer.

A Basi, Luis y Caro.

A mis padres.

A mi maestro, el Prof. Palacios Mateos,
"in memoriam".

AGRADECIMIENTOS

Al Prof. J.M. Palacios Mateos, mi maestro, por sus magníficas enseñanzas en el campo de la Endocrinología y por el interés que siempre demostró en que realizara la tesis doctoral.

Al Prof. Oriol Bosch, por sus consejos y ayudas y por las facilidades prestadas en su Catedra de Endocrinología Experimental.

Al Prof. J.A.F. Tresguerres, gran amigo, por su constante e inapreciable colaboración, sin la cual no hubiera sido posible la realización de este trabajo.

A todos los componentes del Servicio de Endocrinología del Hospital Provincial de Madrid, Medicos, Residentes y Enfermeras, y en especial a mis compañeros los Drs I. Pato Castel, A. García Almansa, J. Salmeron de Diego y P. Rodriguez Poyo, por su estrecha colaboración.

A los alumnos de la Escuela Profesional de Endocrinología del Hospital Provincial, y muy en especial a mi hermano el Dr F.J. Moreno Esteban, por prestarse como controles.

A los Dres E. Mancheño Rico, R. García Robles, L. Perez Mendez, E. Dulín Iñiguez y A. Lopez-Calderon por su colaboración en las determinaciones hormonales.

A Natividad Domínguez.

A M. Dolores Cabezudo.

JUSTIFICACION

JUSTIFICACION

En el diagnostico de los hipogonadismos, se utilizan pa
rametros hormonales tales como la medida plasmatica de testostero
na o su excreción urinaria en 24 horas. Estas medidas sin embargo
no son suficientes en muchos casos para establecer un diagnostico
definitivo.

En estas situaciones es obligada la realización de prue
bas dinamicas de estimulación testicular, que nos permitiran dife
renciar por un lado los hipogonadismos reales de los casos lími-
te-normales, y dentro de ellos establecer las diferencias entre
hipogonadismos primarios y los de origen alto (secundarios o ter-
ciarios).

Estas pruebas de función testicular vienen realizandose
desde el año 1965, si bien no se han puesto todavía de acuerdo
los autores en la forma de practicarlas.

Podemos encontrar en la literatura diferentes vias de
administración de la HCG, distintas pautas y gran variedad de do-
sis.

No se ha hecho hasta el presente un trabajo de sistema-
tizaci3n en el que se establezcan de una manera coherente los cri
terios de realizaci3n de estas pruebas de estimulaci3n y que au-
aunen la mayor comodidad para el medico y el enfermo, con los cos
tes sociales mas reducidos y la mayor fiabilidad en los resulta-
dos.

El presente trabajo pretende abordar el problema, para
lo cual estudiamos tres dosis de HCG diferentes (5000, 2500 y
1000 U.I.) a tres pautas distintas de administraci3n (diaria, du-
rante 5 días, alterna durante 5 días y dosis unica), tanto en vo-
luntarios sanos como en pacientes con patologia testicular varia-
da.

INDICE

PAGINA

A.- INTRODUCCION	1
I.- INTRODUCCION HISTORICA	2
II.- ANATOMIA	5
III.- EMBRIOLOGIA	7
IV.- HISTOLOGIA	10
a) <u>Tubulos seminiferos</u>	10
b) <u>Tejido intersticial</u>	14
V.- FISIOLOGIA	20
<u>ESPERMATOGENESIS</u>	20
- Consideraciones generales	20
- Ciclo del epitelio de los tubulos seminiferos	20
- Renovación de las líneas celulares	22
- Duración de la espermatogenesis	24
<u>BIOSINTESIS HORMONAL</u>	25
- Biosíntesis de androgenos testiculares	26
a) Lugar de la síntesis	26
b) Vías biosintéticas	27
A. Paso de acetato a colesterol	27
B. Paso de colesterol a pregnenolona	31
C. Paso de pregnenolona a testosterona ...	32
c) Localización de los enzimas que intervienen en la síntesis de androgenos	33
- Biosíntesis de estrogenos testiculares	36
<u>SECRECION</u>	37
<u>TRANSPORTE</u>	39
<u>METABOLISMO</u>	41
<u>MECANISMO DE ACCION</u>	43
<u>ACCIONES BIOLOGICAS</u>	47
1. Sobre el desarrollo y conducta	47
2. Sobre los tejidos sexuales	48
3. Sobre los tejidos no sexuales	49
<u>ACTIVIDAD BIOLOGICA</u>	50

VIII

VI.- REGULACION DE LA FUNCION HORMONAL	51
1. <u>Nivel hipotalamico</u>	53
2. <u>Nivel hipofisario</u>	60
3. <u>Nivel testicular</u>	64
<u>INTEGRACION DE LOS SISTEMAS DE CONTROL</u>	67
VII.- EVALUACION DE LA FUNCION TESTICULAR	69
<u>ANALISIS DEL SEMEN</u>	71
<u>DETERMINACIONES HORMONALES</u>	75
A. DETERMINACIONES ESTATICAS	75
A.1 <u>Urinarias</u>	75
A.1.1 17-cetosteroides	75
A.1.2 Cetosteroides fraccionados por cromatografia de gases	76
A.1.3 Glucuronato de testosterona	76
A.1.4 Gonatropinas urinarias	77
A.2 <u>Plasmaticas</u>	77
A.2.1 Testosterona en sangre	77
A.2.2 17-alfa-OH-progesterona	78
A.2.3 Estrogenos	78
A.2.4 FSH y LH plasmaticas	79
A.2.5 Sex hormone binding globulin :...	80
A.2.6 Prolactina	80
B. DETERMINACIONES DINAMICAS	81
B.1 <u>Prueba de estimulación con HCG</u>	81
B.2 <u>Prueba de estimulación con Gn-RH</u>	82
B.3 <u>Prueba del clomifeno</u>	83
VIII.- FISIOPATOLOGIA	85
<u>CON GONADOTROPINAS ELEVADAS</u>	85
A. <u>Fracaso testicular primario</u>	85
a) Con afectación global	85
b) Afectación de la función endocrina	86
b-1 Deficit de 20- α -hidroxilasa	87
b-2 Deficit de 3- β -hidroxiesteroide- deshidrogenasa	87
b-3 Deficit de 17- α -hidroxilasa	88
b-4 Deficit de 17- β -OH-cetosteroide-re	

IX

ductasa	88
b-5 Deficit de 17-20-desmolasa	89
b-6 Deficit de 5- α -reductasa	89
c) Con insuficiencia tubular	90
c-1 Sertoli only	90
c-2 Síndrome de Klinefelter	91
c-3 Síndrome de Ullrich-Turner	92
c-4 Síndrome de Reinfestein	92
c-5 Insuficiencia tubular del adulto ..	93
<u>CON GONADOTROPINAS DISMINUIDAS</u>	94
1. Fallo selectivo completo prepuberal	94
2. Fallo selectivo parcial prepuberal	96
3. Fallo selectivo postpuberal	97
4. Panhipopituitarismo prepuberal	97
5. Panhipopituitarismo postpuberal	98
6. Hiperprolactinemia	99
7. Deficiencia aislada de una gonadotropina .	99
8. Síndrome de Prader-Labhart-Willi	100
9. Síndrome de Lawrence-Moon-Bardet-Rozabal .	101
10. Síndrome Alstrom	101
11. Síndrome Werner	101
12. Trastornos androgenicos de la suprarrena- les	102
13. Carcinoma adrenal productor de estrogénos	102
<u>CON GONADOTROPINAS NORMALES</u>	103
1. Fallo adulto de los tubulos seminíferos ..	103
2. Oligospermia post-orquitis	103
3. Fallo de receptores	103
B.- PACIENTES, MATERIALES Y METODOS. VALORACION ESTADIS- TICA DE LOS RESULTADOS	105
B-1 <u>SUJETOS EXPERIMENTALES</u>	106
b-1.1 Controles	106
b-1.2 Enfermos	106
B-2 <u>DISEÑO EXPERIMENTAL</u>	107
b-2.1 Prueba de estimulación en normales	107
b-2.2 Cinética de respuestas de una inyección	

X

única de 2.500 U.I. de HCG	108
b-2.3 Aplicación clínica	109
B-3 <u>MÉTODOS DE LABORATORIO</u>	109
b-3.1 Glucuronato de testosterona en orina	109
b-3.2 Testosterona en plasma	110
b-3.3 17- α -OH-progesterona en sangre	111
B-4 <u>VALORACIÓN ESTADÍSTICA DE LOS RESULTADOS</u>	113
b-4.1 Test de Wilcoxon	113
b-4.2 Regresión y correlación	115
C.- <u>RESULTADOS</u>	119
C-1 <u>DETERMINACIÓN DE TESTOSTERONA EN SANGRE Y GLUCURONATO DE TESTOSTERONA EN ORINA DE 24 HORAS, EN CONDICIONES BASALES Y TRAS ESTIMULACIÓN CON 5000 U.I. DIARIAS Y 5000 U.I. ALTERNAS DE HCG EN VOLUNTARIOS NORMALES</u>	120
C-2 <u>DETERMINACIÓN DE TESTOSTERONA EN SANGRE Y DE GLUCURONATO DE TESTOSTERONA EN ORINA DE 24 HORAS EN CONDICIONES BASALES Y TRAS ESTIMULACIÓN CON 2500 U.I. ALTERNAS DE HCG EN VOLUNTARIOS NORMALES</u> ...	128
C-3 <u>DETERMINACIÓN DE TESTOSTERONA EN SANGRE Y DE GLUCURONATO DE TESTOSTERONA EN ORINA DE 24 HORAS EN CONDICIONES BASALES Y TRAS ESTIMULACIÓN CON 1000 U.I. DE HCG POR VÍA INTRAMUSCULAR EN VOLUNTARIOS NORMALES</u>	136
C-4 <u>DINÁMICA DE LA SECRECIÓN DE TESTOSTERONA Y DE 17-OH-PROGESTERONA EN 6 VOLUNTARIOS NORMALES TRAS UNA ÚNICA INYECCIÓN DE 2500 U.I. DE HCG SEGUIDOS DURANTE 30 HORAS</u>	140
C-5 <u>DINÁMICA DE LA SECRECIÓN DE TESTOSTERONA Y 17-HIDROXIPROGESTERONA EN 7 VOLUNTARIOS NORMALES TRAS UNA ÚNICA INYECCIÓN DE HCG SEGUIDOS DURANTE 114 Y 60 HORAS RESPECTIVAMENTE</u>	145
C-6 <u>TESTOSTERONA EN SANGRE BASAL Y TRAS RESPUESTA AL ESTÍMULO CON 2500 U.I. DE HCG EN DIFERENTES ESTADOS PATOLÓGICOS</u>	151
D.- <u>DISCUSIÓN</u>	157

XI

D-1 <u>VALORES BASALES NORMALES</u>	158
D-2 <u>ESTIMULO CON HCG</u>	161
E.- CONCLUSIONES	178
F.- BIBLIOGRAFIA	182

A. INTRODUCCION

I - INTRODUCCION HISTORICA

La función testicular se relaciona con las características sexuales secundarias desde la antigüedad.

DEMOCRITO (460-370 años antes de J.C.) en su doctrina atomista habla de "vermiculos que adoptan figura humana", deduciendo BUFFON (1840) de esta expresión que el filósofo griego sospechaba la existencia de los espermatozoides.

El creador de la filosofía idealista, PLATON (429-347 años antes de J.C.) expone un fantástico concepto en "Tímaeus" sobre la existencia de pequeños animales que se desarrollan en el interior del útero y que los identifica con los foetus. HIPOCRATES (460-377 años antes de J.C.) es el más importante representante de la teoría del "semen doble". Acepta este autor que tanto el hombre, como la mujer producen alternativamente semen masculino y femenino, como producto del metabolismo del cuerpo entero, pero sobre todo del cerebro.

En su obra sobre la reproducción de los animales, ARISTOTELES (384-322 años antes de J.C.) distingue entre animales que se reproducen sexualmente, asexualmente o por generación espontánea.

Pasan unos siglos hasta que GALENO (129-201 años después de J.C.) mantiene la opinión de que la mujer produce semen y que éste, si no es eliminado, enfría el cuerpo. Afirma que, junto con la sangre menstrual, el semen femenino estancado es la causa de la "histeria"; se enfría el semen, se paraliza por esto la respiración y conduce a la aparición de la asfixia y convulsiones.

Llega como ocurre en casi todos los aspectos de la medicina una época de oscurantismo, hasta la Edad Media en la que los conceptos de los antiguos filósofos siguen dominando sobre las

doctrinas de la reproducción.

En el siglo XVI, FABRICIO AQUAPENDENTE se ocupa experimentalmente de la fecundación y acepta que el óvulo y el ovario se fecundan por la secreción espiritual, inmaterial del semen del varón. También su discípulo HARVEY es de la misma opinión: "la influencia del esperma sobre la germinación depende de la vitalidad de éste, es decir, es semejante a la fuerza de los astros sobre todos los seres vivientes de la tierra" (De generatione animalium).

Es vital en la fisiología testicular el año 1677 en que HAM medico y alcalde de Arnheim y LEUWENHOEK descubrieron los espermatozoides, aunque pensaba éste último que se reproducían por generación espontánea y se multiplicaban en la zona indiferenciada del testículo, considerando a este órgano como depósito de ellos, donde se almacenan hasta la eyaculación.

Cuando auténticamente comienza a conocerse la fisiología del testículo es en el siglo XIX, con el conocimiento de que los espermatozoides derivan de las células de los túbulos seminíferos.

Por esta misma época, en 1850, un anatómico alemán FRANTZ VON LEYDIG describe las células intersticiales, aunque en los conocimientos de la época se sugirió que su misión era la de suministrar materiales nutritivos a los espermatozoides.

La primera evidencia del papel endocrino de estas células ya denominadas células de Leydig, no fue aportada hasta 1903, en que BOVIN y ANCEL observaron que presentaban un núcleo prominente en el que existían las características morfológicas exhibidas por otras células implicadas en la secreción endocrina.

Después de una serie de experiencias confusas, los primeros en hablar de una hormona testicular fueron CALLAGHER y KOCH

en 1929. La androsterona es el primer compuesto cristalizado con efectos androgénicos, siendo extraída por BUTENANDT en 1931 aunque hasta 3 años más tarde no se aclara su constitución química (necesitó 15.000 litros de orina de macho, para obtener un rendimiento de unos 5 miligramos).

En 1935 LAQUER aísla la testosterona del tejido testicular, siendo aclarada su constitución química en ese mismo año por RUZICKA, WETTSTEIN y BUTENANDT.

Jalones importantes, por tanto, en la comprensión de la fisiología testicular, haciendo abstracción de múltiples y sensoriales trabajos que sería largo y prolijo traer a estas líneas, son los siguientes:

- 1903, descubrimiento del papel endocrino de las células de Leydig.
- 1935, se descubre la constitución química de la testosterona.
- 1942, KLINEFELTER, REINFESTEIN y ALBRIGHT describen el síndrome de Klinefelter, en honor de este autor.
- 1958, FORD, JACOBS y LASTHA, describen que el anterior síndrome es debido a una alteración cromosómica.
- 1968, BRUCHOVSKY y WILSON descubren la conversión de la testosterona en 5-alfa-dihidrotestosterona en los órganos diana.
- 1976, se describe la existencia en las células de Leydig de receptores de membrana para la LH/HCG (HSUEH y cols.).
- 1978, se observa el fenómeno de la insensibilidad testicular a dosis altas y repetidas de HCG .
(SAEZ, HAOUR y TELL).

II - ANATOMIA

Los testículos tienen una forma ovoidea, con el eje mayor oblicuo de arriba abajo y adelante atrás. Su tamaño para un hombre adulto es el siguiente: su eje mayor es de 45 mm., su anchura es de 25 mm. y su altura de 30 mm.

El peso en el individuo adulto es de 18 a 22 grs. incluyendo el del epidídimo, correspondiéndole a este unos 3-4 grs. La consistencia es elástica y al corte presenta un color parduzco.

Está recubierto por una túnica fibrosa dura de color blanco, llamada albugínea, de la penetran hacia el interior del tejido testicular tabiques incompletos que lo dividen en una especie de lobulillos de forma piramidal con base en la periferia. En la línea media de la cara posterior la albugínea presenta un engrosamiento que se llama antro de Highmore.

Por fuera de la albugínea el testículo está recubierto por una membrana serosa, la vaginal que tiene dos capas, la interna o visceral y la externa o parietal; entre ambas existe un líquido sinovial.

En el polo posterior del testículo, que es el lugar de entrada y salida de los vasos testiculares, está situado el epidídimo, que es una estructura constituida por el apilamiento de los conductillos eferentes testiculares que desembocan en un conducto único, el conducto deferente.

La irrigación del testículo, que es muy rica, corre a cargo de la arteria espermática o principal, rama de la aorta, y de la deferencial o accesoria, rama de la vesical inferior.

Las venas se dividen en profundas y superficiales y confluyen todas ellas hacia el cuerpo de Highmore, y a partir de

aquí, se dirigen en forma de 5-6 troncos hacia arriba para unirse a otro grupo venoso y penetrar en el cordón espermático.

Los linfáticos también se reúnen a nivel del cuerpo de Highmore y acompañando a las venas van a parar al cordón para desembocar desde allí en los ganglios preaorticos, yuxtaorticos y en los de la cadena iliaca externa.

La inervación testicular se realiza a expensas de los grupos espermáticos superior, medio e inferior. Los del primero derivan del plexo mesentérico y del plexo celíaco. Los nervios espermáticos intermedios parten de la porción superior del plexo hipogástrico, y los del grupo inferior nacen en el plexo vaginal. Luego, todos ellos acompañan a la arteria espermática en el interior del escroto, donde van a inervar las respectivas estructuras.

La inervación intrínseca del parenquima testicular no es aún bien conocida. Mientras que algunos investigadores (PETERS, 1957) suponen que las fibras nerviosas penetran en los túbulos seminíferos y directamente inervan a las células de Sertoli, otros (LINZELL y SETCHELL, 1968) utilizando técnicas histoquímicas encuentran fibras simpáticas confinadas al área perivascular, las cuales solo tienen una función vasomotora.

III - EMBRIOLOGIA

Antes de la séptima semana de vida embrionaria, las gonadas de ambos sexos son de idéntico aspecto, de modo que el examen de su estructura no permite hacer un diagnóstico del sexo. Los testículos pueden ser ya identificados en embriones de aproximadamente 15 mm. de longitud cuando el blastema gonadal masculino es subdividido en cordones sexuales por el desarrollo de haces de tejido fibroso.

Los cordones sexuales están primero unidos al epitelio germinal del que derivan. Cuando el feto llega a 15 mm. se desarrolla una capa fibrosa densa, la túnica albúginea, la cual separa completamente los cordones sexuales del epitelio germinal.

Posteriormente se produce la inclusión de las células primordiales masculinas dentro de los cordones sexuales y se produce la prolongación de éstos formando una red, la "rete testis". Los cordones se canalizan para dar lugar a los túbulos seminíferos, cuyas paredes están formadas por las células de sostén (Sertoli) rodeando a las células germinales primordiales intercaladas.

Algunos de los cordones más cortos no se canalizan y posiblemente persisten como algunas de las células intersticiales del testículo. Sin embargo, la mayor parte de las células intersticiales derivan de las células mesenquimáticas del estroma.

Durante la vida fetal las células intersticiales testiculares muestran una marcada actividad especialmente durante el 3°, 4° y 5° mes (GIROUD, 1958).

La rete testis se canaliza más tarde (50 a 90 mm.) y por prolongaciones posteriores dentro del estroma mesonéfrico se une con algunos de sus túbulos. Los cinco o doce tubos mesonéfricos

cos que se unen con la rete testis pierden sus glomerulos, pero persisten para formar los conductillos eferentes que ponen a la rete testis en comunicación con el conducto mesonéfrico.

Finalmente se instaura el período de descenso, ya que los testículos desde su situación inicial junto a la columna lumbar, van descendiendo desde un período embrionario temprano. En el tercer mes se hallan en la pelvis mayor; en el quinto alcanzan el anillo inguinal interno, penetrando en el séptimo mes en el conducto inguinal, para alcanzar en el octavo mes de la vida intrauterina el escroto.



FIG 1. Aspecto microscopico del epitelio germinal
(Tomado de WISTCHI)

IV - HISTOLOGIA

Desde un punto histológico y funcional el testículo presenta dos componentes principales: los túbulos seminíferos y el tejido intersticial.

A - TÚBULOS SEMINIFEROS

La membrana basal de los túbulos seminíferos humanos es tá compuesta por fibras colágenas embebidas en una matriz de mucopolisacaridos, células contractiles y fibroblastos. Esta membrana basal es extremadamente sensible a los procesos patológicos y responde a ellos con cambios proliferativos, característicos tales como fibrosis y/o hialinización.

En estos túbulos seminíferos se produce la espermatogé-nesis, que es el proceso de formación de espermatozoides a partir de células germinales inmaduras localizadas en la membrana basal tubular, (Fig. 1).

La espermatogonia, que es la menos diferenciada de las células germinales, da lugar a los espermatocitos. Esta célula es única porque inmediatamente después de su formación entra en un lento proceso de meiosis dando lugar a la formación de células haploides, las espermatídes, las cuales ya no se dividen, sino que mediante un lento proceso de metamorfosis se convierten en una célula flagelada y móvil, que es el espermatozoide.

Mientras que la clarificación de los cambios cinéticos de la espermatogénesis progresan lentamente en algunas especies de mamíferos, las dificultades son mayores en los estudios del testículo humano. Parece ser que el proceso de la espermatogéne-sis, que se realiza ciclicamente y en ondas, según los estudios

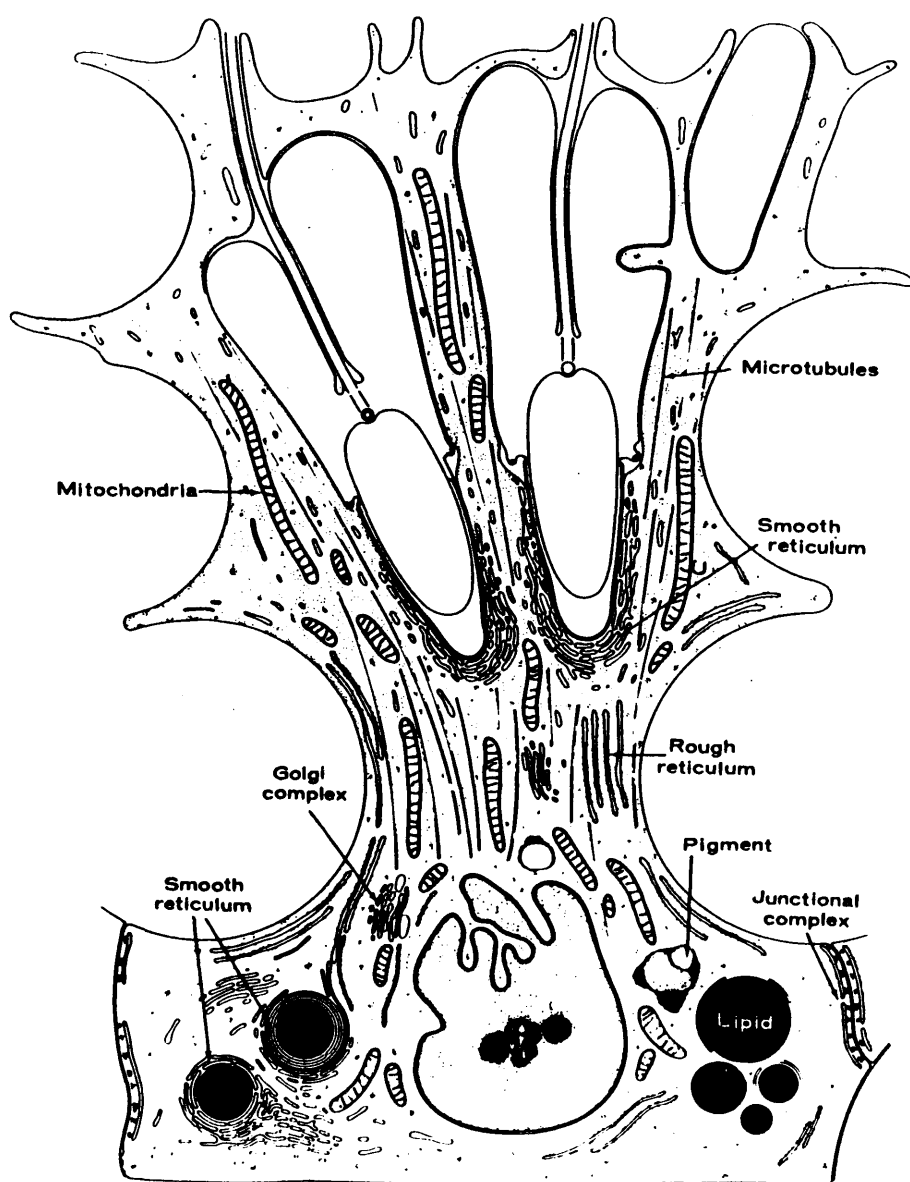


FIG 2 ESQUEMA CELULA SERTOLI
(Tomado de FAWCET Handbook of Phisidology 1975)

autorizados de HELLER y CLERMONT (1963), y dura aproximadamente 74 días.

CELULAS DE SERTOLI

Son los únicos elementos no germinales del epitelio seminífero. Estas células tienen un citoplasma en íntimo contacto con la membrana basal. Su núcleo es irregular y complejo y su citoplasma contiene varios organelos (Fig. 2).

Estas células proliferan solo durante los primeros siete días del desarrollo testicular, y parece ser que en el testículo adulto no se dividen.

Desde su descripción por SERTOLI (1865) la función de estas células ha sido un enigma hasta hace pocos años. Este autor las llamó "nurse cell" (células de alimentación) y posteriormente otros investigadores le han asignado diversas funciones. Parece ser que las células de Sertoli son las principales responsables de la fagocitosis de los restos celulares eliminados en la metamorfosis de las espermatídes a espermatozoides.

Recientes estudios han demostrado que una amplia variedad de sustancias presentes en la circulación son excluidas del fluido del epitelio seminífero, lo que haría suponer la existencia de una barrera hemato-testicular parecida a la barrera hematoencefálica. FAWCET (1969) en unos elegantes experimentos demostró la base ultraestructural de dicha barrera hematotesticular, la cual dividiría al epitelio germinal en un compartimento basal y otro adluminal. El primero contiene las espermatogonias y el adluminal las restantes células germinales (Fig. 3).

Recientemente se ha descubierto que las células de Sertoli, bajo el estímulo de la FSH (STEINBERGER, HEINDEL y LINDSEY,

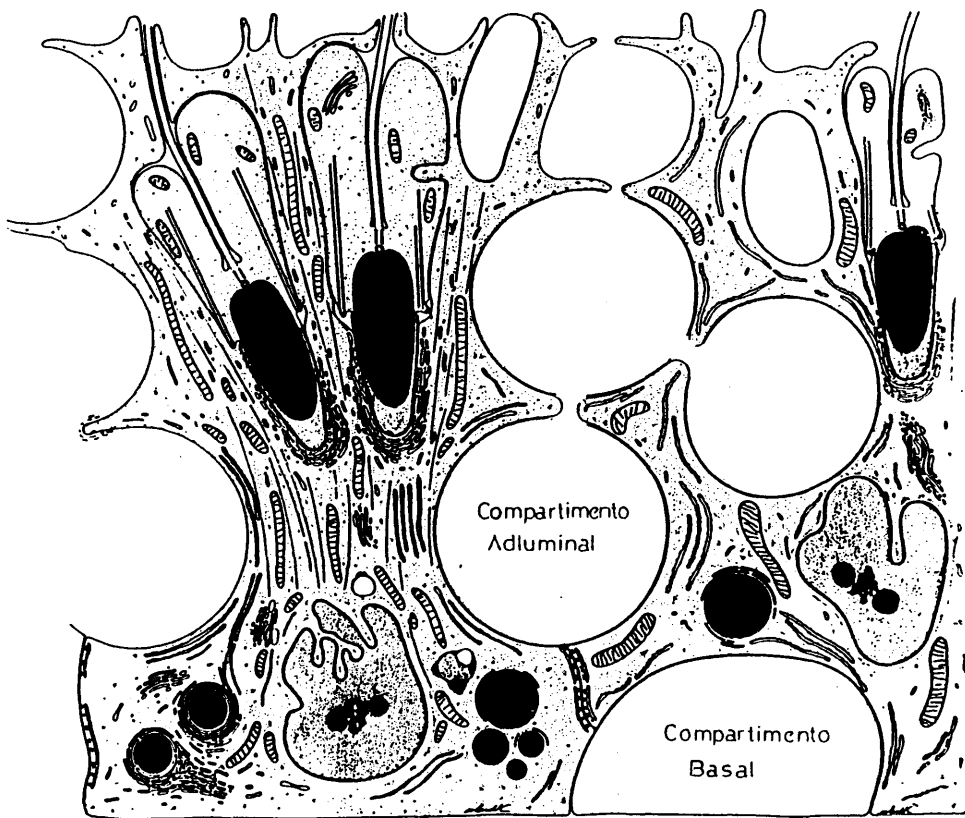


FIG 3. Base estructural de la barrera hematotesticular.

El compartimento basal contiene las espermatogonias,
el adluminal contiene el resto de células germinales.
FAWCETT, 1969. Handbook of Physiology & Endocrinology.

1975) son capaces de segregar una proteína tubular que es capaz de unirse a la testosterona y a la dihidrotestosterona (HANSSON, 1974). Esta proteína denominada ABP (Androgen Binding Protein) depende también para su secreción de la presencia de testosterona y es imprescindible para el normal funcionamiento de los túbulos seminíferos (Fig. 4).

La ABP tiene un peso molecular de 105.000, es muy parecida a la proteína transportadora de hormonas sexuales (SHGB) y tiene como función el aporte androgénico a los túbulos seminíferos (TAMM, 1975).

B - TEJIDO INTERSTICIAL

El tejido intersticial contiene el órgano endocrino de los testículos que son las células de Leydig. Estas células fueron identificadas como lugar de producción de los andrógenos a principios de siglo (LOISEL, 1903) y confirmadas como tal por estudios citoquímicos en las últimas décadas (BALLIE y FERGUSON, 1966 y MENDELSON y CATT, 1975) y por cultivo de tejidos (STEINBERGER et al 1967) (Fig. 5).

Las células Leydig son comunes a varias especies, pero en el hombre, el tejido intersticial presenta una serie de características que le distinguen, como son: relativa pobreza de linfáticos y la presencia de cristaloides de Reinke en el citoplasma (CHRISTENSEN, 1975). En el testículo adulto se ha visto que las células de Leydig no se dividen, y en su citoplasma se observan organelos encargados de la producción de hormonas esteroideas (Fig. 6).

En estudios ultraestructurales combinados con investigaciones bioquímicas se ha demostrado la relación entre varios de estos organelos y la producción de andrógenos que se realiza de

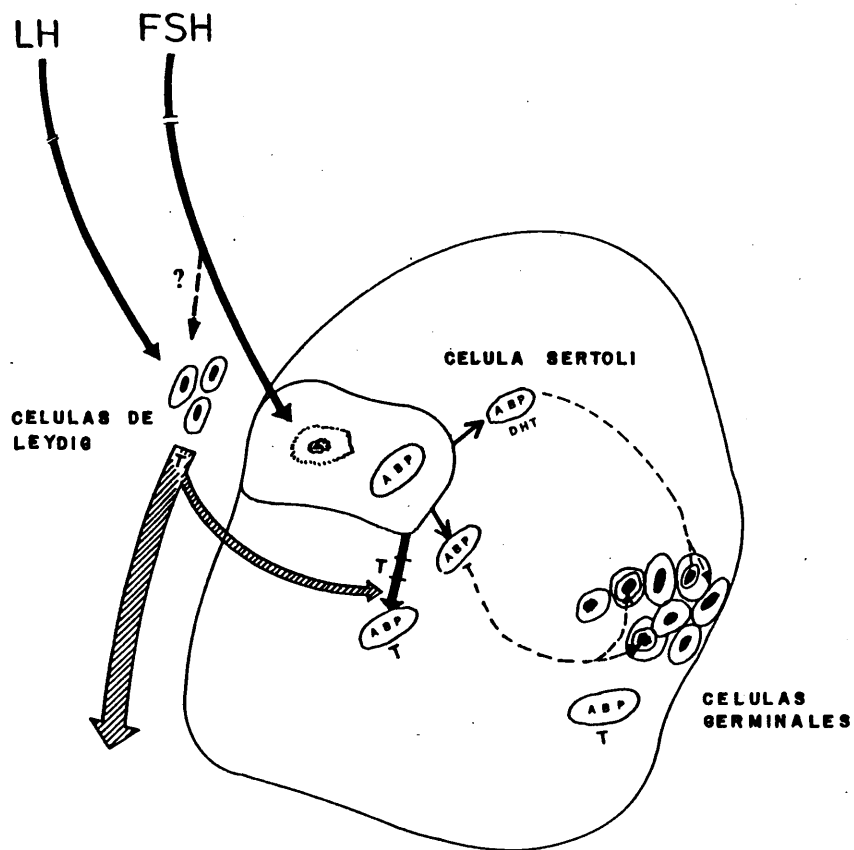


FIG. 4 SECRECION DE ABP POR LAS CELULAS DE LEYDIG.

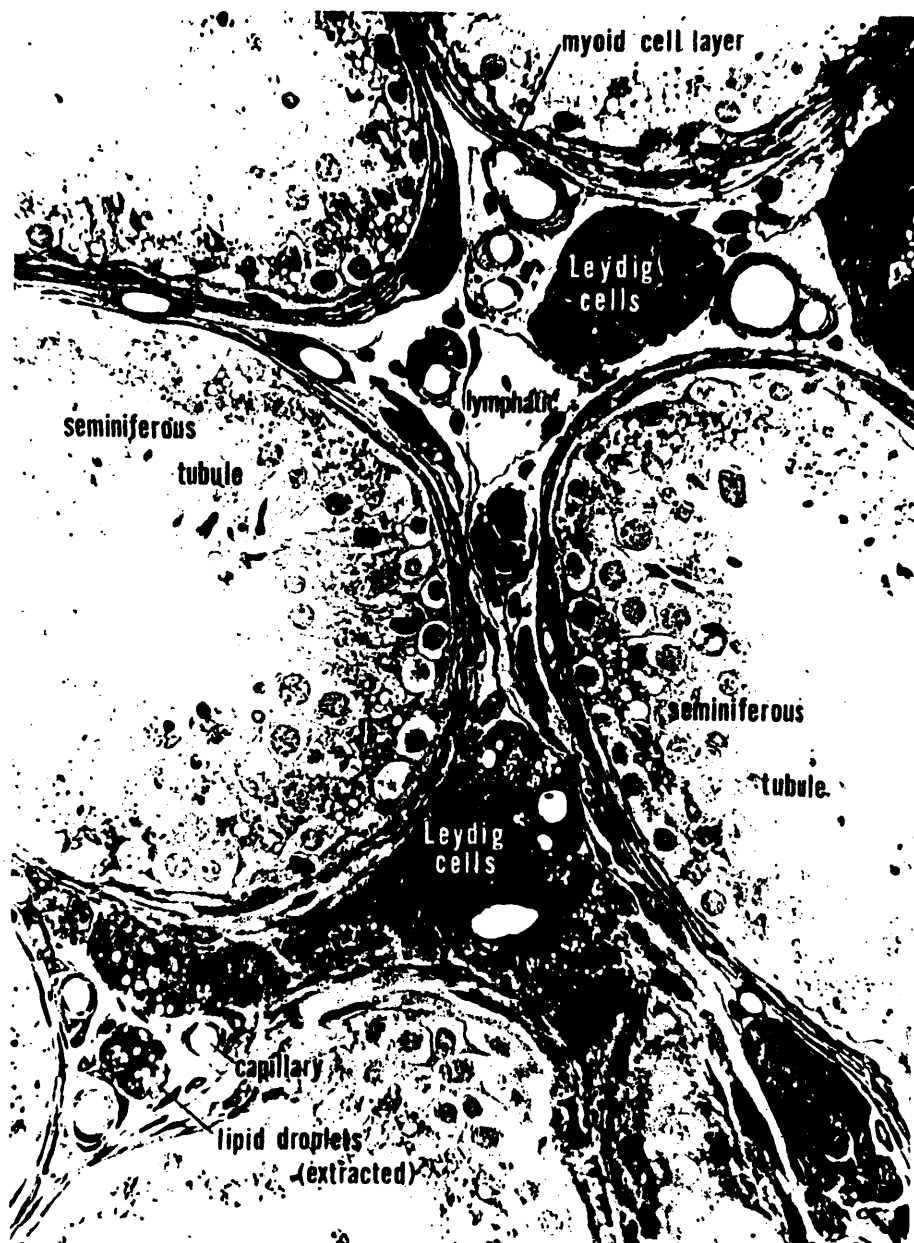


FIG 5. ASPECTO MICROSCOPICO DEL TESTICULO HUMANO
Tomado de Handbook of Phisiolo 1975

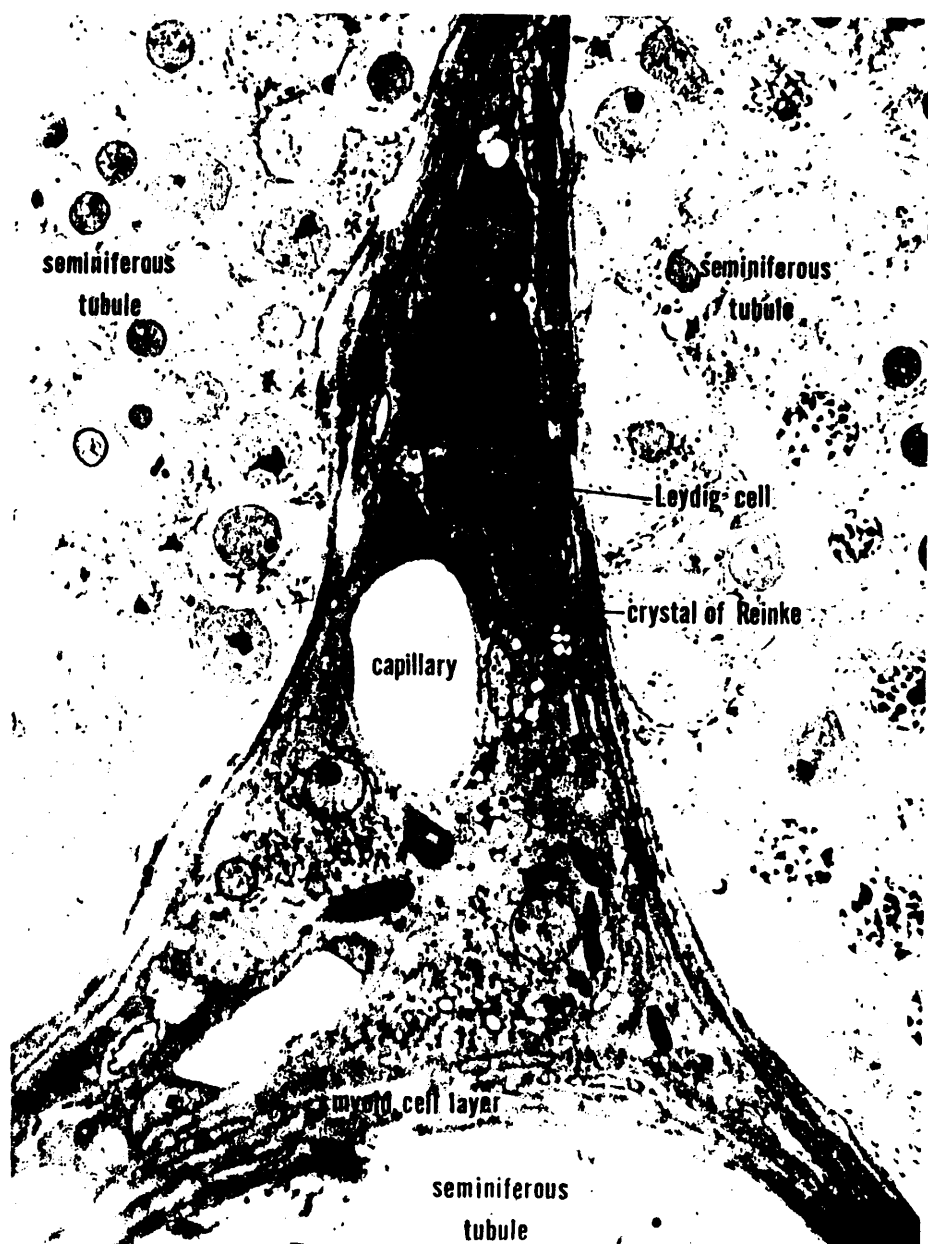


FIG 6. CELULA DE LEYDIG. Aspecto microscopico.
(Tomado de Handbook of Phisiology, 1975)

la siguiente manera: el colesterol circulante o el sintetizado en el retículo endoplásmico liso es transportado al interior de la mitocondria, donde se transforma en pregnenolona. Esta es transportada al retículo endoplasmático rugoso, donde después de futuras transformaciones se convierte en testosterona (Fig. 7).

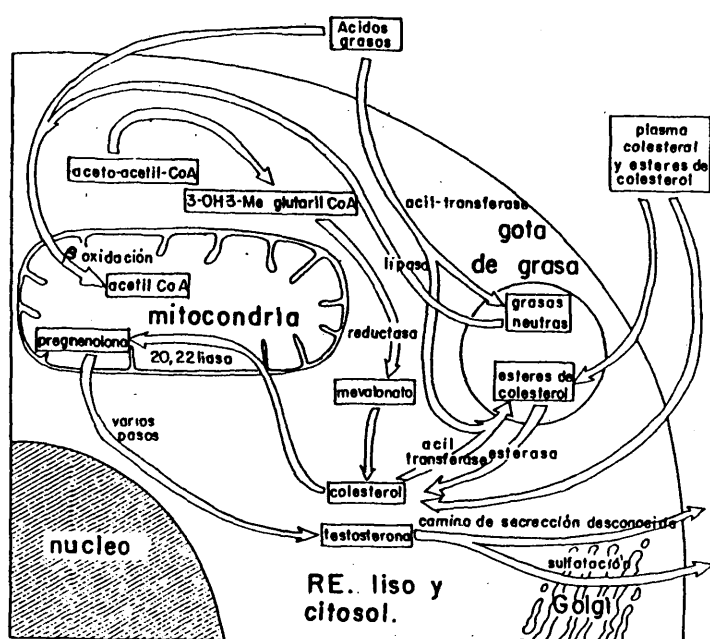


FIG 7 . Probable vía intracelular de la síntesis y secreción de Testosterona en la célula de Leydig.
Tomado de CHRISTENSEN, Handbook of Physiology, 1975.

V - FISILOGIA

ESPERMATOGENESIS

CONSIDERACIONES GENERALES

El descubrimiento de que la espermatogénesis se realiza a expensas de células que proceden de los testículos es sabido desde 1841, en que VON KOLLIKER investigó las características morfológicas de los túbulos seminíferos.

Después de que fueron caracterizadas las diferentes células del epitelio germinal, se observó que los espermatogonias se dividen y maduran convirtiéndose en espermatocitos de primer orden, los cuales a través de su proceso de reducción o división meiótica, dan lugar a las células haploides, las espermatídes. Estas después de una complicada metamorfosis, y tras modificaciones estructurales del núcleo, formación de nuevos organelos y después de adquirir unos mecanismos que le permitan motilidad unidireccional independiente, se convierten en espermatozoides.

La secuencia completa de cambios en las estructuras celulares es lo que se ha dado en llamar ciclo espermatogénico.

CICLO DEL EPITELIO DE LOS TUBULOS SEMINIFEROS

Han sido realizados numerosos intentos para clasificar los detalles del ciclo espermatogénico. LEBLOND y CLERMONT (1963) utilizando unas técnicas autorradiográficas observaron cambios morfológicos característicos en los acrosomas de las espermatídes de los testículos de ratas, describiendo un total de 19 pasos de

esta espermatogénesis.

El ciclo es definido como "la serie de cambios que se dan en el epitelio del túbulo seminífero entre dos apariciones de los mismos estadios del desarrollo".

La célula germinal más inmadura - la espermatogonia tipo A - está localizada en la membrana basal. Tienen pequeño tamaño, son redondeadas y exhiben frecuentes mitosis. Se van dividiendo y maduran, aumentando de volumen, y transformándose en espermátocitos primarios que se disponen en dos o tres capas.

Cada uno de estos espermátocitos primarios sufren una división meiótica, dando lugar a dos células más pequeñas, con número haploide de cromosomas, que son los espermátocitos secundarios.

Tras una nueva división se forman otras células de menor tamaño, sino que sólo maduran, formando cada uno de ellos un espermatozoide, que se vierte en la luz del túbulo.

En otros animales estos estadios son diferentes, y así OAKBER (1957) ha descrito con detalle los doce pasos existentes en el ratón y en el mono y distinto número de ellos en el hamster, toro, conejo, etc.

En el hombre con estudios de microscopía electrónica, se ha comprobado que el epitelio germinal se dispone en seis fases. Cada fase está compuesta por una costelación celular específica que representa un grado particular de maduración. En conjunto las fases I a VI en secuencia constituyen la unidad funcional próxima. Esta unidad ha sido considerada como un ciclo. Si se siguen las espermatogonias pálidas tipo A recientemente formadas, la maduración progresa varias veces de forma ordenada a través de cada fase antes de que surjan espermatozoides maduros.

RENOVACION DE LAS LINEAS CELULARES

Las células del epitelio germinal proliferan constantemente a lo largo de la vida del hombre adulto, requiriendo un constante suplemento de células germinales precursoras. El mecanismo de cómo se produce este proceso dió lugar a múltiples suposiciones, como las de que las células de Sertoli se transformaran en células germinales, o la que proponía que las células de la pared de los túbulos se pudieran transformar directamente en espermatogonias. Hoy en día, estas tesis están completamente abandonadas.

Asimismo la teoría de una mitosis bivalente (ROLSHOVEN, 1941), es decir que las espermatogonias jóvenes se dividen en una espermatogonia y un espermatocono, hoy no puede ser admitida.

HELLER y CLERMONT (1964) utilizando timidina marcada con tritio y técnicas autorradiográficas formularon la teoría de la renovación de las líneas celulares, la cual se basa en que al principio de cada ciclo de la espermatogénesis se produce una línea celular adicional, la cual permanece inactiva o "dormida" hasta el ciclo siguiente, en el cual la espermatogonia da lugar al tipo A y posteriormente se transforma en el espermatozoide maduro.

Esta espermatogonia "durmiente" al dividirse da lugar a una nueva generación de líneas celulares y a otra nueva generación de espermatogonias tipo A, repitiéndose de nuevo el proceso.

Esto que fue observado primeramente en la rata (CLERMONT, 1963 y 1968 y HILSCHER y cols 1968), se ha podido confirmar en diferentes especies animales como el pato, hamster, el mono y el hombre (CLERMONT, 1966).

Después de la descripción original de esta teoría de la renovación de las líneas celulares, se han observado distintos ti

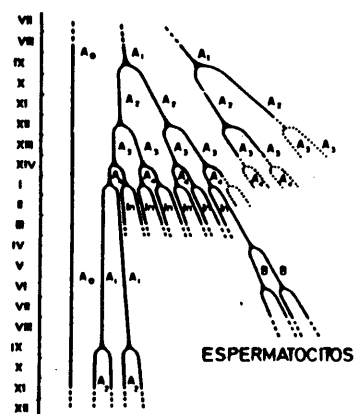


FIG 8 . Representación del modo de proliferación y renovación de las líneas celulares en la rata.

(CLERMONT & BUSTOS OBREGON. Handbook of Physiol.)

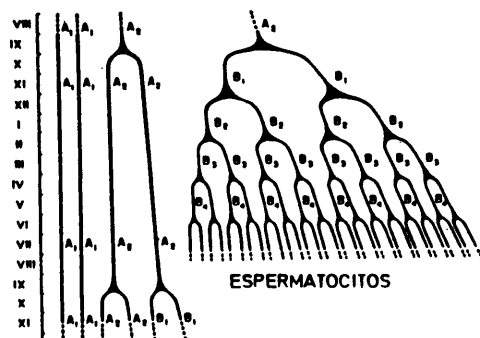


FIG 9 . Representación del modo de proliferación y renovación de las líneas celulares del mono.

(Tomado de CLERMONT. Handbook of Physiology)

pos morfológicos de espermatogonia A, que han sido designados como A₁, A₂, A₃ y A₄, así como otro tipo que sería el A₀. Este último tipo ha sido considerado como línea celular de reserva, mientras que los tipos A₁, a A₄ serían líneas celulares renovadoras (Figs. 8 y 9).

Sin embargo en la actualidad, en el hombre quedan detalles sin aclarar en este proceso de renovación.

DURACION DE LA ESPERMATOGENESIS

La duración de la espermatogénesis ha sido determinada por OAKBERG (1957) en diferentes especies de mamíferos. Con técnicas de timidina marcada se ha visto que la duración en el hamster es de 35 días, de 49 días en el toro, 43 en el conejo y de 74 ± 4 días en el hombre (HELLER y CLERMONT, 1959).

Los espermatozoides vertidos en la luz tubular carecen de movilidad y en este momento son en su mayor parte capaces de fecundar. En su recorrido por el rete testis, conductos eferentes, epidídimo y conducto deferente se nutren con las secreciones del epitelio de estas estructuras, condicionadas por la testosterona. Por tanto esta hormona está implicada en la espermatogenesis mediante una acción trófica sobre el líquido seminal, que es algo más que un simple vehículo, ya que aporta los elementos nutritivos necesarios para la maduración y el metabolismo de los espermatozoides, que al carecer de citoplasma necesitan de estas sustancias para su supervivencia y motilidad. Esta última función, y la capacidad fecundante las adquieren durante su recorrido por el epidídimo, que dura unas dos semanas, tardando siete días en alcanzar la ampolla del conducto deferente, donde quedan retenidos hasta el momento de eyaculación.

El eyaculado se forma además por el líquido de las glan

dulas bulbouretrales de Cowper y sobre todo las secreciones de las vesículas seminales y de la próstata.

La composición química del líquido seminal es compleja. Contiene un 6% de proteínas (albumina, prealbumina, globulina y glucoproteínas); además es rico en hidratos de carbono, sobre todo en fructosa, que proviene de las vesículas seminales que es necesaria para la nutrición de los espermatozoides y alcanza una concentración de 300 mg% c.c. También existe en este líquido ácido cítrico de origen prostático en una cantidad de 500 mg.% c.c., que interviene en la coagulación del eyaculado y actúa en los procesos energéticos de los espermatozoides. Tanto esta sustancia como la fructuosa son estimuladas por la testosterona. También se encuentran en el líquido seminal polipéptidos, aminoácidos libres, ácidos grasos, vitaminas B₂ y C, calcio, fósforo, magnesio, cloruros, enzimas (fosfatasa ácida, alcalinas y peptidasas) así como hormonas (testosterona sobre todo, estrógenos y prostaglandinas).

Es fundamental la concentración de cada uno de estos productos, ya que mínimas variaciones repercuten en la maduración, vitalidad y capacidad fecundante.

Además los espermatozoides, el líquido seminal y el tejido testicular contienen antígenos capaces de producir una sensibilización heteróloga que puede interferir con la cuantía y maduración de los espermatozoides.

BIOSINTESIS HORMONAL

Los andrógenos son esteroides que dan lugar a la diferenciación y al desarrollo de los órganos reproductivos masculinos y de la aparición de los caracteres sexuales secundarios del hombre y de la conducta sexual. Pero es que además son necesarias para el mantenimiento de todas estas funciones.

En el testículo se producen tres hormonas androgénicas: la testosterona, androstenediona y la dehidroepiandrosterona. Existe una cuarta hormona de interés fundamental, que es la 5- α -dihidrotestosterona (también llamada androstanolona y DHT) que se encuentra en el hombre y en algunas especies de animales. También hay una secreción directa de muy pequeñas cantidades de estrógenos: estrona y estradiol (BAIRD, 1973).

BIOSINTESIS DE ANDROGENOS TESTICULARES

a) Lugar de la síntesis

No hay duda de que las células intersticiales representan la mayor fuente de andrógenos testiculares. Estas células convierten el colesterol y la progesterona en andrógenos. La pregunta a plantear es si las células de Leydig son el único lugar de formación de la testosterona, ya que disponen del 98% de la 3- β -olhidroxisteroide-deshidrogenasa, necesaria para el paso del colesterol a pregnenolona.

Se ha visto en túbulos aislados que la progesterona puede ser convertida en testosterona en pequeña cantidad, y tiene que ser a partir de estos precursores, ya que el colesterol no puede ser convertido en andrógenos. VAN DER MOLEN en 1977 sugirió que al no poder ser posible que las células de Sertoli den lugar a esta conversión, sería debido a la presencia de alguna célula de Leydig que contaminase la preparación de túbulos aislados.

De todas maneras esta cuestión no está completamente aclarada en el momento actual.

b) Vías biosintéticas (Fig. 10)

- A. Acetato ————— Colesterol
 B. Colesterol ————— Pregnenolona
 C. Pregnenolona ————— Andrógenos

A. Paso de acetato a colesterol

Los testículos son capaces de sintetizar testosterona a expensas del acetato. Esta síntesis ha sido demostrada partiendo del acetato marcado con C^{14} mediante la perfusión de testículos "in vivo" (SAVARD, DORFMAN y PONTASSE, 1952) y mediante la incubación "in vitro" (BRADY, 1951).

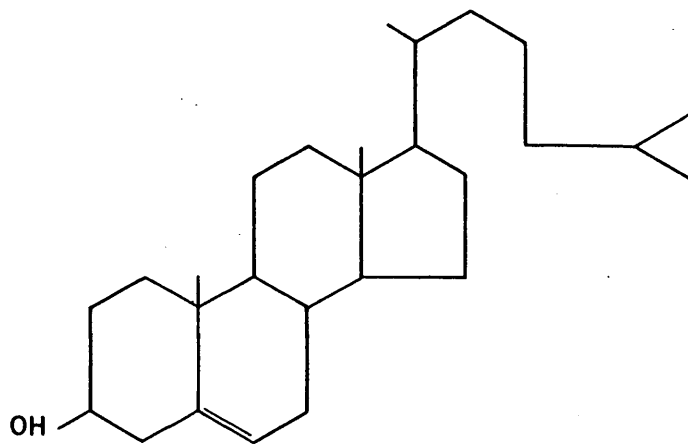
La mayor parte de los informes sugieren que los esteroides se sintetizan en las glándulas endocrinas partiendo a la vez del acetato y del colesterol del plasma; la importancia de estos dos orígenes depende de la glándula endocrina en particular, de la especie, y quizá también del estado de actividad de la glándula.

Independientemente de cual sea la última fuente de aprovechamiento del sustrato en los testículos, el colesterol aparece como un intermediario obligado de la síntesis de testosterona.

Los pasos iniciales de la síntesis de las hormonas esteroides en las glándulas endocrinas a partir del acetato, posiblemente son idénticos a los que se producen en la síntesis de colesterol en el hígado (POPJAK y CONFORTH, 1966). Esto condiciona la concentración de moléculas de acetato en su forma activada, dando primero aceto-acetato, y después ácido hidroximetilglutárico. Este se reduce a ácido mevalónico, que da lugar a la unidad básica de isopreno (5 carbonos). Posteriormente se condensan unidades

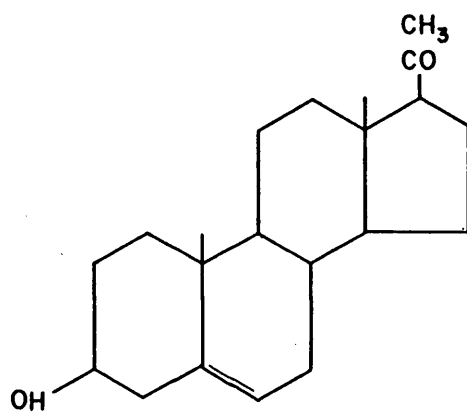
28

A)



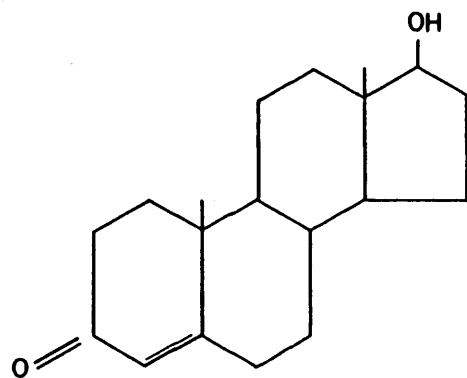
COLESTEROL

B)



PREGNENOLONA

C)



TESTOSTERONA

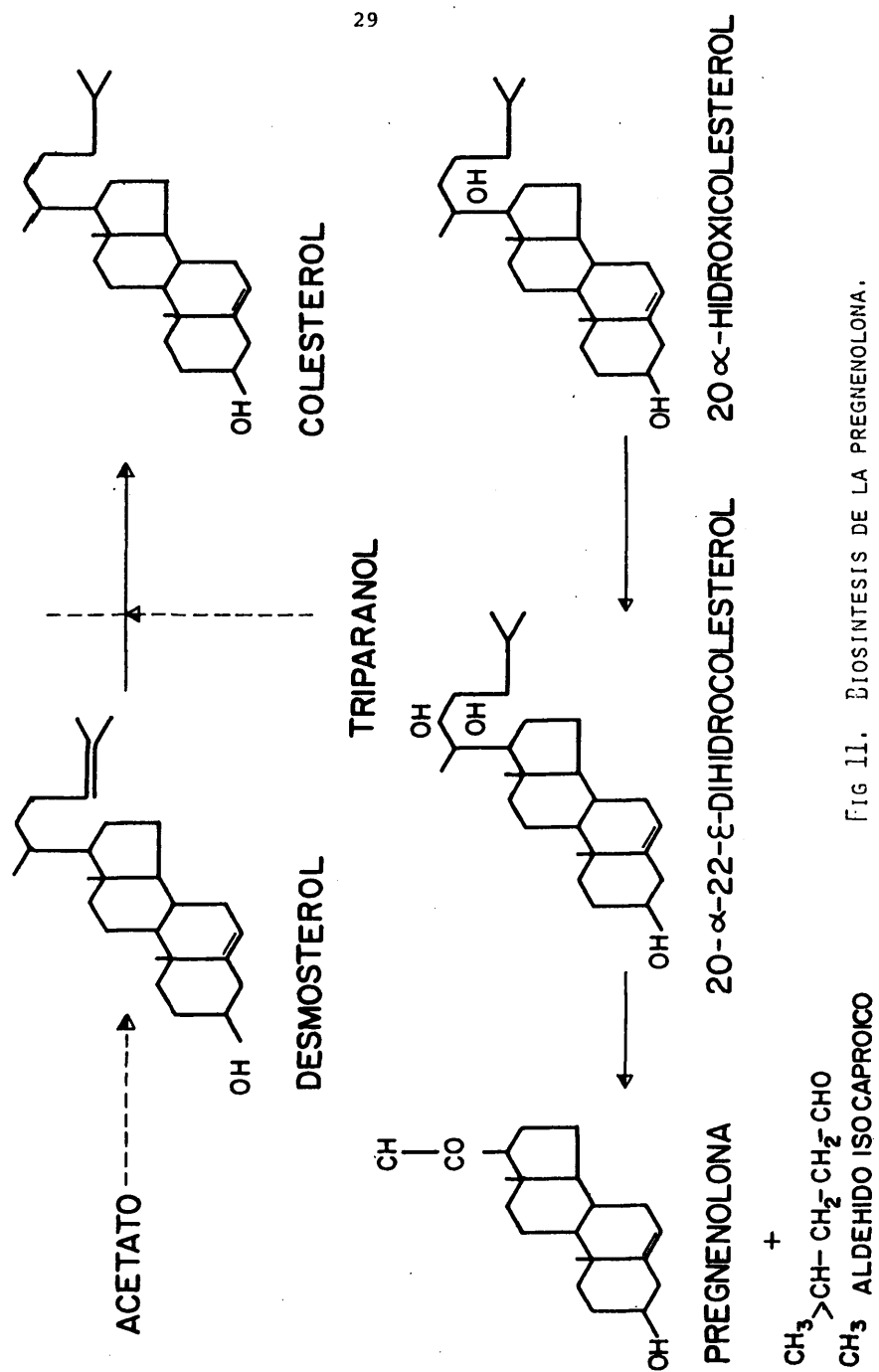
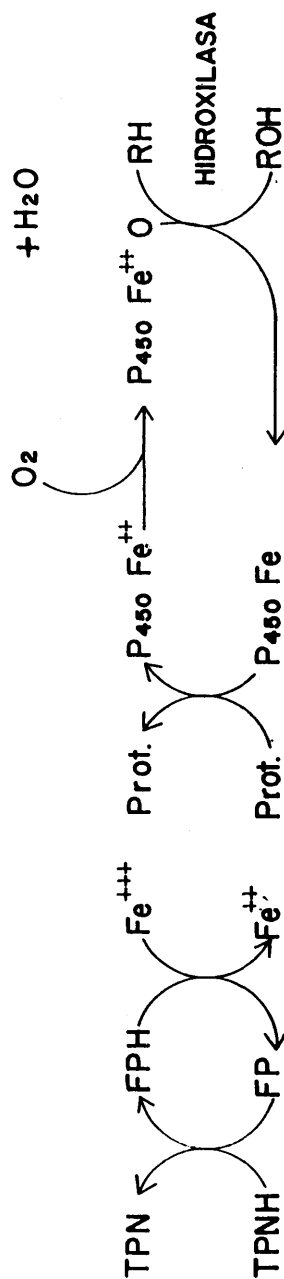


Fig 11. BIOSINTESIS DE LA PREGNENOLONA.



FP= Flavoproteína
 P450 Fe= Citocromo P450
 RH= Esteroides

FIG 12. MECANISMO DE HIDROXILACION ESTEROIDEA

de isopreno dando lugar a productos de 10, 15 y 30 carbonos, el último de los cuales, el escualeno, experimenta una ciclación, formandose el lanosterol, que es un esteroide trimetilado, que después de sucesivas desmetilaciones se convierte en desmosterol. En éste se produce una saturación del doble enlace Δ^{24} y se transforma en colesterol.

B. Paso de colesterol a pregnenolona

Una fase clave en la síntesis de todas las hormonas esteroideas es la conversión del colesterol en pregnenolona.

Esta secuencia de pasos parece ser que modula la velocidad de transformación y es aquí el punto donde se ejerce el control de la secreción por parte de las hormonas tróficas. La escisión de seis átomos de carbono de la cadena lateral del colesterol requiere la presencia de TPNH y oxígeno molecular. Esto sugiere la existencia de un mecanismo de hidroxilación, produciéndose una primera sustancia que es el 20- α -hidroxicolesterol. Este esteroide es un precursor eficaz de la síntesis de la pregnenolona en preparados testiculares "in vitro".

A partir de él, se supone que se forma el 20 α -22- dihidroxicolesterol, ya que este producto aún no ha sido aislado. El hecho de que el 20- α -hidroxicolesterol no radiactivo añadido a una preparación testicular que sintetiza H^3 -pregnenolona a partir del H^3 colesterol no consigue captar el H^3 - 20- α -hidroxicolesterol, provoca ciertas dudas sobre el carácter de intermediario asignado a este esteroide. Sin embargo, parece ser que el sustrato de la escisión de la cadena lateral permanece fuertemente unido a un constituyente mitocondrial a lo largo de todo el proceso de las reacciones que intervienen (HALL, 1964).

La fase final de la síntesis de la pregnenolona necesi-

ta la rotura del enlace entre el C-20 y 22 por acción de una liasa 20-22 dando aldehído isocaproico.

Si bien es cierto que el colesterol es el precursor normal de la pregnenolona, el desmolesterol también se puede convertir en ella (Fig. 11).

Las hidroxilaciones de los C-20 y C-22, así como otras hidroxilaciones de los esteroides son realizadas por oxidasas de función mixta. Estos sistemas enzimáticos requieren la presencia de una flavoproteína, una proteína que contenga hierro, un citocromo (P450), TPNH, oxígeno molecular y la enzima específica del sustrato que sea apropiada para asegurar la especificidad de la localización y la orientación estereoespacial (Fig. 12).

La hidroxilación se produce cuando un electrón, que se traslada a lo largo del transporte de electrones, reduce el citocromo P450. Este a su vez reduce el oxígeno molecular a una molécula de agua y un segundo átomo activado de oxígeno, que se introduce entre los átomos de carbono y de hidrógeno en la molécula. El otro átomo de hidrógeno unido a aquel átomo de carbono no queda afectado.

C. Paso de pregnenolona a testosterona

Hay diferentes caminos para convertir la pregnenolona en testosterona, cada uno de los cuales necesita las siguientes enzimas: 17 α -hidroxilasa, 17-20 liasa, 17-hidroxiesteroide-desidrogenasa, 3- β hidroxiesteroide-desidrogenasa, $\Delta^{4,5}$ -3-cetosteroide isomerasa.

Existe un orden en la secuencia enzimática, así la hidroxilación en C-17 debe proceder a la escisión de la cadena lateral.

Las vías más importantes son a partir de la pregnenolona y de la progesterona. El primero de ellos transcurre a través de una serie de intermediarios (Fig. 13) que poseen todos ellos un grupo 3 - B - hidroxí y un doble enlace entre los carbonos 5 y 6. Es el llamado proceso Δ^5 .

El segundo camino a realizar a través de una serie de productos intermediarios que poseen un oxo en C-3 y doble enlace entre C_4 y C_5 . Es el proceso Δ^4 .

Se sabe a través de múltiples estudios "in vitro" en testículo de ratones que la vía Δ^4 es la más importante (SHIKITA y cols 1965) aunque en el hombre hay evidencias (YANIHARA y TROEN, 1972) de ser más trascendentes la vía Δ^5 .

No obstante es posible que la vía preferente puede depender de circunstancias fisiológicas o del momento determinado.

c) Localización de los enzimas que intervienen en la síntesis de andrógenos

Las enzimas para la síntesis del colesterol a partir del acetato están en los microsomas, lo mismo que los que convierten la pregnenolona en testosterona, pero los enzimas necesarios para la escisión de la cadena lateral del colesterol están en la mitocondrias (Fig. 14).

Por tanto el acetato se introduce en los microsomas donde se forma el colesterol. Este pasa al citoplasma, donde se une con el colesterol sanguíneo y pasa a la mitocondria donde se escinde la cadena lateral y se forma el 20- α -hidroxicolesterol, el 20- α -22-dihidroxicolesterol y la pregnenolona, la cual pasa de nuevo a los microsomas para completar la síntesis de andrógenos.

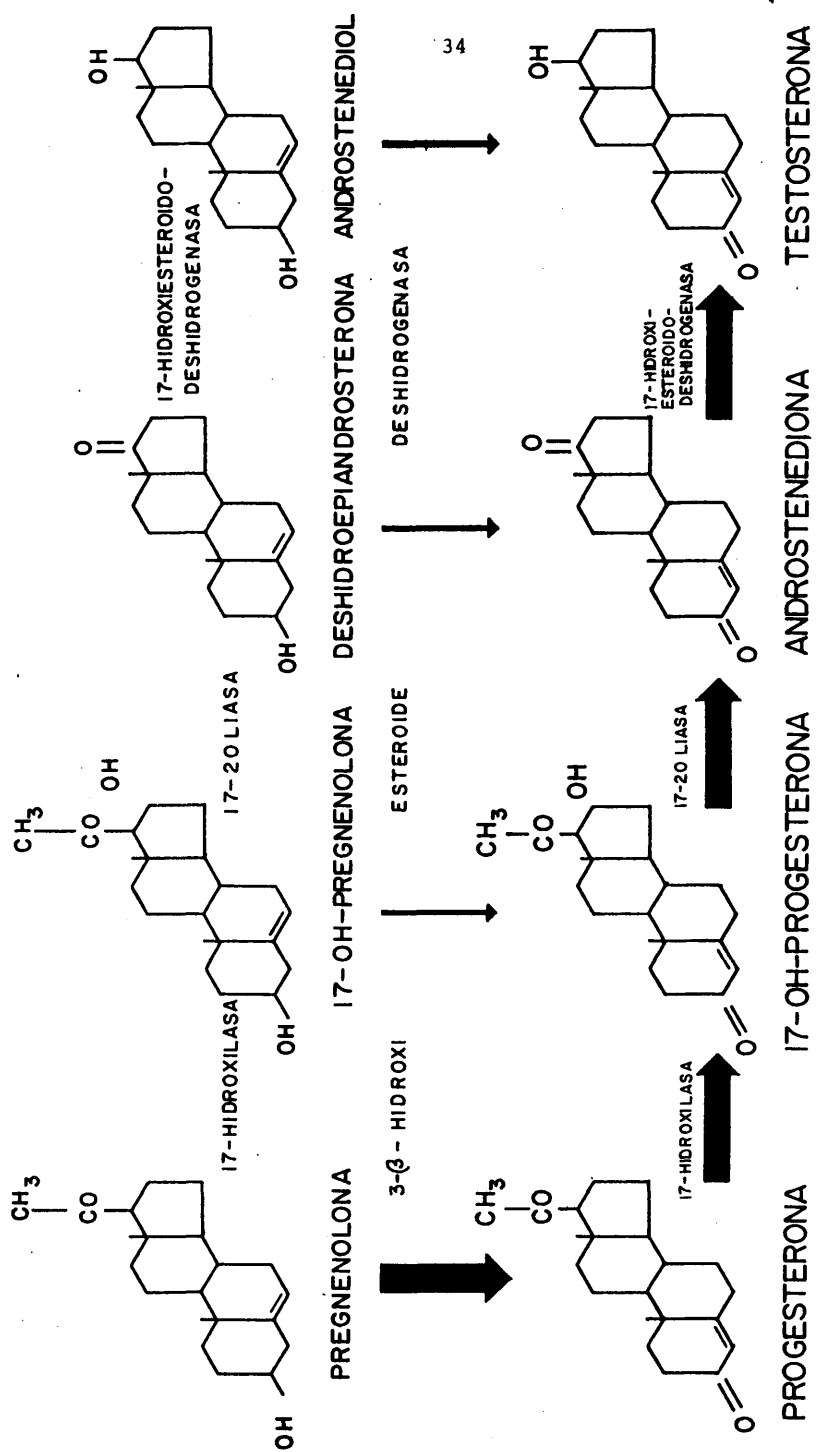


FIG 13. BIOSINTESIS DE PREGNENOLONA A TESTOSTERONA

* PROCESO Δ^5

● PROCESO Δ^4

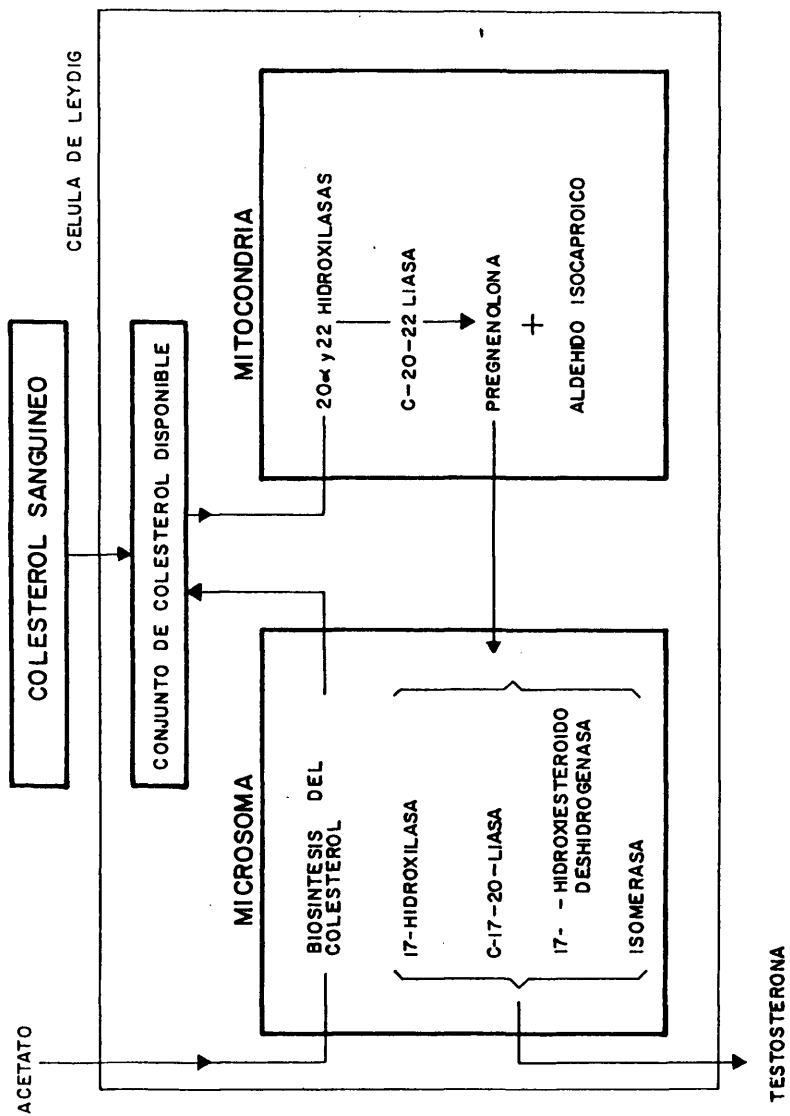


FIG 14. SITUACION DE LOS ENZIMAS QUE INTERVIENEN EN LA SINTESIS DE TESTOSTERONA EN LAS CELULAS DE LEYDIG.

BIOSINTESIS DE ESTROGENOS TESTICULARES

El plasma y la orina de los hombres adultos contiene estrógenos, y numerosos estudios sugieren que los testículos pueden ser la fuente de estos compuestos (EIK NESS, 1974).

FISHMAN (1973) ha demostrado que el hombre adulto normal produce aproximadamente 65 microgramos de estradiol al día, y una tercera parte de esta cantidad procede de la conversión periférica de la testosterona y de la androstendiona. En otro estudio se ha encontrado que los estrógenos plasmáticos procedentes de conversión periférica suponen el 95% (WEINSTEIN, 1974). Sin embargo hay evidencia directa de la secreción de estrona y estradiol en el hombre (LONGCOPE, 1972), así como su elevación tras la administración de gonadotropina coriónica humana (DE JONG, 1973).

La vía sintética de los estrógenos testiculares no es bien conocida, aunque en diferentes especies animales se ha visto que la dehidroepiandrosterona es el producto intermediario más importante.

Por último el lugar de producción de estos andrógenos no es bien conocido. En un primer momento se pensó que serían las células de Leydig el lugar principal de su producción, aunque parece ser que las células de Sertoli pueden contribuir. No obstante posteriores estudios (DE JONG, 1972) han confirmado que los túbulos seminíferos son capaces de sintetizar estrógenos, que luego son transportados a las células de Leydig, donde se han encontrado receptores estrogénicos (MULDER and cols 1973).

SECRECION

La testosterona es el principal producto hormonal de secreción de los testículos adultos, tanto en cantidad como en actividad biológica.

En el hombre la tasa de secreción de testosterona, calculada por el gradiente arteriovenoso y estimada por diferentes técnicas que no hacen al caso en este momento, es de 5 mg/día (LIPSETT, 1974). La castración o destrucción de las células de Leydig, reduce esta cantidad a valores muy bajos.

El testículo humano también segrega estrógenos, de los cuales el más importante es el estradiol, en una cantidad de 10-15 microgramos/día, el cual representa únicamente el 20-25% del estradiol circulante. El resto es producido por la aromatización periférica de los andrógenos.

Además los testículos también segregan dihidrotestosterona (DHT). Este andrógeno esteroideo es de 1 1/2-2 veces más potente que la testosterona. SAEZ y su grupo (1972) han estimado que se segrega diariamente de DHT entre 50-100 microgramos/día.

Pero no son los únicos esteroides segregados, los mencionados anteriormente, ya que los precursores de la biosíntesis de la testosterona también se hallan en los fluidos orgánicos. Así la pregnenolona, progesterona, 17 α hidroxipregnenolona, 17 α -hidroxiprogesteroⁿa, dehidroisoandrosterona, androstenediona, son secretados por los testículos, en cantidades variables, aunque en menor cantidad que en las suprarrenales.

Vamos a detenernos brevemente en una serie de situaciones a lo largo de la vida en las que varía la secreción de testosterona.

Durante la vida fetal, en el embrión de 70 días los testículos humanos aumentan de tamaño y experimentan un periodo de actividad. Desde ese momento ya son capaces de formar testosterona a expensas de un cierto número de precursores, y en su momento la testosterona ya puede medirse en el feto. Puesto que la diferenciación de los conductos de Wolff y del seno urogenital se produce en ausencia de hipófisis fetal, parece lógico pensar que la HCG materna, que es capaz de atravesar la placenta, sea la responsable de la estimulación de dicha síntesis. Así en el tercer trimestre de embarazo, al disminuir la concentración de HCG en el plasma materno, se observa una disminución proporcional en la testosterona fetal. En este momento los testículos experimentan un periodo de inactividad hasta después del parto.

Luego viene el periodo de la infancia y de la niñez, durante el cual sabemos que los testículos están en actividad, aunque muy baja, durante estas fases de la vida y se puede comprobar que la concentración de testosterona plasmática está muy por encima de la observada en el género femenino, en los tres primeros meses de la vida, para luego disminuir a cifras prácticamente nula hasta la pubertad.

En la fase puberal, durante el sueño se advierten unos incrementos de la concentración de testosterona en sangre, en relación con los picos de secreción nocturna de la LH, y remitiendo al despertar.

La secreción va a ir aumentando paulativamente durante toda la pubertad, hasta llegar a la edad adulta, donde la testosterona no se segrega de forma continua sino esporádica, observando un ritmo circadiano, con un máximo pico entre las 6 y 8 horas de la mañana y mínimo a las 20-22 horas de la noche. Hay que consignar, aunque es de todos conocido que esta variación cíclica es mucho menor que la del cortisol.

TRANSPORTE

La testosterona en el hombre normal se fija en un 60% de la SHBG, un 38% de la albúmina y un 2% permanece en estado libre (Fig. 15).

Sólo la fracción libre de la testosterona en plasma es capaz de intercambiarse en los compartimientos extravascular e intracelular y por ende activa biológicamente tanto ésta como la unida a la albúmina es capaz de ser metabolizada en el hígado.

La SHBG es una proteína de transporte muy específica para la testosterona, dihidrotestosterona y 17- β -estradiol. Químicamente es una betaglobulina de P.M. que se estima entre 52.000 y 115.000. Su afinidad para la testosterona disminuye al aumentar la temperatura, y si ésta se eleva a 60°C. se produce una pérdida irreversible de la capacidad de unión (Proteína termolábil).

La administración de andrógenos reduce y la de estrógenos aumenta la concentración de la SHBG. Por tanto el aumento de la producción de estrógenos, al actuar aumentando la globulina transportadora, hace disminuir la fracción libre biológicamente activa de la testosterona en relación con la estradiol. De modo parecido el aumento de la producción de andrógenos incrementa la testosterona libre en relación con la de estradiol.

Las hormonas tiroideas aumentan la concentración de SHBG, mientras la hormona del crecimiento la disminuye.

Dado que solo la testosterona libre posee actividad biológica, hay ocasiones en que es necesario medir el grado de enlace de la hormona a sus proteínas transportadoras para averiguar el estado androgénico real de un individuo. ¿Como se mide la cuantía del enlace con la testosterona?. Hay un gran número de técnicas, entre los que destacan la ultrafiltración y la dialisis de equilibrio.

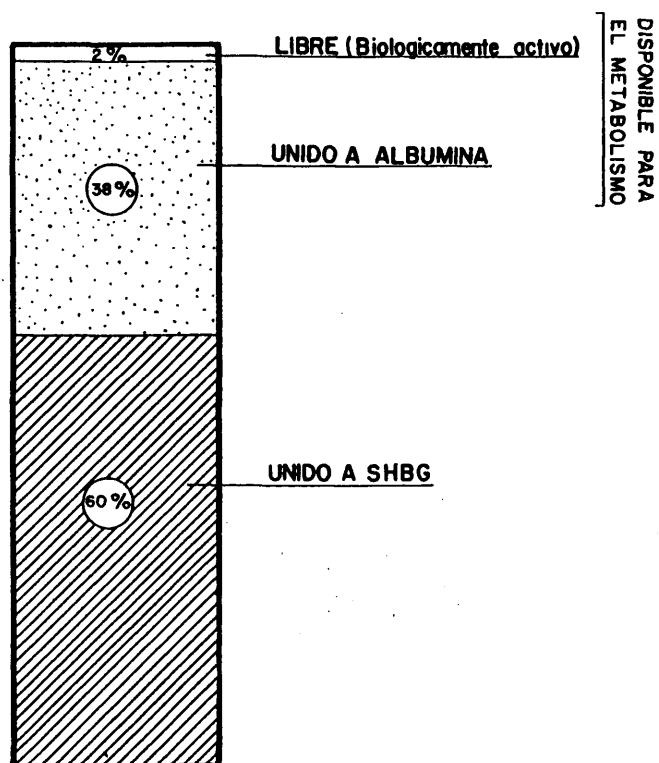


FIG 15 . UNION DE LOS ANDROGENOS A LAS PROTEINAS PLASMAICAS.

METABOLISMO

Lo mismo que otras hormonas esteroideas que poseen las características Δ^4 - 3-OXO, la testosterona se cataboliza principalmente por la reducción de esta estructura, con la adición de cuatro átomos de hidrógeno.

En el hombre, casi la mitad de la testosterona, que se segrega es excretada en forma de androsterona (3 - α - hidroxí - 5 - α - androstan - 17 ona), y etiocolanolona (3 - α - hidroxí - 5 - β - androstan - 17 - ona). En estos esteroideas, no sólo se ha reducido la estructura Δ^4 - 3-oxo, sino que el grupo 17- β -hidroxí se ha oxidado a 17-oxo.

También se produce un tercer isomero, la epiandrosterona (3- β -hidroxí-5 α -androstan-17-on), aunque en cantidad mucho menor.

Las enzimas necesarias para estas transformaciones, se encuentran principalmente en el hígado. Unas en la fracción soluble (la Δ^4 - 5- α - reductasa y la 3 α y 3 β -hidroxí-esteriode-hidrogenasa) y otra en la fracción microsómica (la Δ^4 - 5 β - reductasa).

Las cantidades de estas hormonas varían de unas especies a otras y entre los diferentes sexos.

Aunque los 17-oxosteroides (androsterona y etiocolanolona) son los principales metabolitos de la testosterona, su excreción no proporciona un índice fiable de su secreción, ya que los andrógenos menos fuertes, como la androstenediona y la dehidroepiandrosterona son segregados en su mayor parte por la adrenal y se metabolizan también dando estos mismos metabolitos.

Un mejor índice de la producción de testosterona nos lo proporciona la eliminación urinaria de glucoronato de testosterona, sobre todo en personas normales, aunque puede ser fuente de errores en mujeres y en varones con hipogonadismo.

Los 5α y 5β androstano- 3α - 17β -dioles isoméricos, son también metabolitos menores de la testosterona, y una proporción muy pequeña de éstas se convierte en estradiol.

Los estrógenos se excretan por la orina casi totalmente conjugados con los ácidos sulfúrico y glucurónico. En general el esteroide está unido a través del grupo 3-hidroxí y hay una unión ester con el ácido sulfúrico y otra de tipo éter con el ácido glucurónico.

En cualquier de los casos el conjugado resultante es ácido y puede ser extraído de la orina con los solventes ácidos normales. Luego puede separarse por hidrólisis con ácido o con un sistema enzimático, extrayendo por fin el esteroide con un solvente orgánico.

MECANISMO DE ACCIÓN

Desde 1962, y merced a los trabajos de JENSEN y JACOBSEN, se conoce el mecanismo de acción de los estrógenos, que es similar con pequeñas diferencias al resto de las hormonas esteroideas.

En el caso concreto de la testosterona sabemos que atraviesa la membrana celular, y en el interior de la célula, mediante una enzima microsomal, la 5-alfa-reductasa, que depende del TPNH, se transforma en DHT, la cual se acopla a una proteína o receptor citoplasmático y este nuevo complejo hormona-receptor se desplaza a lo largo de la cromatina, hasta que encuentra una superficie aceptora que da lugar a la activación genómica y consecuentemente al efecto biológico (Fig. 16).

La unión del esteroide al receptor citoplasmático es una etapa necesaria para la acción hormonal. Las células diana, capaces de responder específicamente a la testosterona, contienen en su citoplasma proteínas específicas en cantidad limitada, fácilmente saturables incluso a cantidades bajas de la hormona, y con gran afinidad para unirla.

La estereoespecificidad, la estrecha relación entre la testosterona por el lugar de unión y potencia biológica, así como la traslocación del complejo al núcleo son los hechos fundamentales para considerar a estas proteínas específicas como los receptores que mediaran el efecto biológico de la hormona.

Las características fisicoquímicas de los receptores para andrógenos se ven en la Fig. 17.

La interacción del receptor citoplasmático con la testosterona da lugar a un complejo (R_C+H) preactivo, que al sufrir cambios en la conformación, queda activado y puede ser traslocado

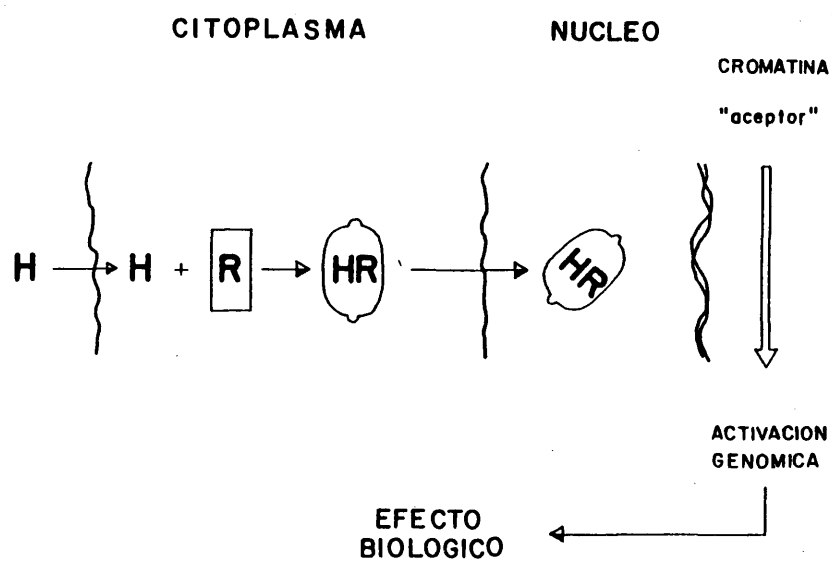


FIG 16 . MECANISMO INTIMO DE ACCION HORMONAL

CARACTERISTICAS FISICO-QUIMICAS DE LOS
RECEPTORES CITOPLASMATICOS PARA LOS ANDROGENOS

- 1.- Unen específicamente esteroides biologicamente activos.
- 2.- La unión andrógeno-receptor es no covalente.
- 3.- Gran afinidad por la hormona : $K_d \ 10^{-10} M$.
- 4.- Caracter ácido.
- 5.- Naturaleza proteica. Resistencia a nucleasas y ribonucleasas.
- 6.- Coeficiente de sedimentación : 8 S / 3,5 S.
- 7.- Peso molecular 50.000 - 150.000 daltons.
- 8.- El proceso de traslocación al nucleo es dependiente de la temperatura.

al núcleo donde se une a un aceptor cromatínico.

Según EDELMAN (1975) existirían dos formas de receptor citoplasmático de equilibrio: una activa y otra inactiva. Cada una de ellas sería capaz de formar complejos hormonales con distinta actividad, de tal manera que la segunda forma no podrá sufrir la activación y subsecuente traslocación al núcleo.

SHERMAN (1974) ha propuesto un modelo distinto, en el cual el receptor estaría constituido por dos subunidades, una de bajo peso molecular y carácter básico, que uniría a la hormona, y otra que sería la encargada de la unión específica con el aceptor nuclear.

¿Que ocurre desde que se forma el complejo receptor-hormona hasta que llega al núcleo?. Existen diferentes teorías. Una de ellas afirma que el receptor podría constituir tan sólo un elemento necesario para transporte de hormona al núcleo. Otra teoría propone que la hormona podría ser la señal para que se traslocase la macromolécula al compartimiento nuclear, sin que juegue un papel transcendente.

Por último la teoría más admitida es la que baraja la posibilidad de que sea el complejo receptor-hormona el responsable de interaccionar con la cromatina.

El proceso de la activación genómica, aunque no totalmente aclarado en todos sus pasos, parece ser una cascada de eventos que comienzan con el aumento de la actividad cromatínica, la cual trae como consecuencia el aumento de la actividad cromatínica, que da lugar al aumento de la actividad de unas polimerasas (la I y II), que a su vez provoca aumento de la producción de mRNA el cual estimula la síntesis proteica y se consigue el efecto hormonal.

ACCIONES BIOLÓGICAS

La testosterona, y en general los andrógenos ejercen amplios y variados efectos sobre el organismo, tanto sobre los órganos sexuales como sobre los no sexuales.

1.- SOBRE EL DESARROLLO Y CONDUCTA

Antes del nacimiento tiene una importancia fundamental en la diferenciación de los conductos de Wolff y de los genitales externos en sentido masculino, así como en la diferenciación sexual cerebral. Se sabe desde 1936, en que PFEIFFER demostró en experimentación animal, que si se injerta testículos a hembras inmediatamente después del nacimiento, la secreción de gonadotropinas hipofisarias en la edad adulta es continua sin que presenten ciclos.

Si en vez de injertar tejido testicular, se administra testosterona en los cinco primeros días de la vida, ocurre lo mismo que en el supuesto anterior, lo cual es debido a que las hormonas del testículo fetal marcan para siempre un tipo de conducta en el cerebro, que regulará en etapas posteriores la actividad hipotalámica.

Pero no solo influye la presencia de testosterona en la secreción continua de gonadotropinas, sino que también interviene en la posterior conducta del animal. Así HARRIS y LEVINE (1962) comprobaron que ratas hembras tratadas con testosterona inmediatamente después de nacer, perdían por completo la conducta femenina, y mostrando al ser adultas una conducta sexual claramente masculina (montan a otras ratas e incluso imitan los movimientos de la eyaculación).

En el hombre es difícil verificar estos hallazgos experimentales, aunque en gran parte se le pueden aplicar. Hay autores que consideran que las alteraciones ováricas observadas tras la pubertad, como ocurre en el síndrome de Stein-Leventhal, podría ser la consecuencia de una anomalía en la sexualización hipotalámica.

2.- SOBRE LOS TEJIDOS SEXUALES

Estimula la testosterona el desarrollo de los caracteres sexuales secundarios masculinos, por lo que en la pubertad aparece el bigote y la barba, aumentan la actividad de glándulas sudoríparas y sebáceas, la voz se hace más grave a consecuencia de la hipertrofia de la laringe y el engrosamiento de las cuerdas vocales.

Los genitales externos aumentan de tamaño y se pigmentan, haciéndose rugosa la piel del escroto.

Aumenta la vascularización de los tejidos sexuales y se desarrollan las vesículas seminales y la próstata, aumentando su función secretora.

Además la testosterona estimula el crecimiento de los túbulos seminíferos y favorece la acción de la FSH sobre el epitelio germinal, siendo capaz por sí sola y a altas dosis, de mantener la espermatogénesis en animales hipofisectomizados (BROOKS, 1975).

Junto con los andrógenos suprarrenales estimula la libido y la potencia sexual.

3.- SOBRE LOS TEJIDOS NO SEXUALES

La testosterona estimula el crecimiento en general, y hay un incremento de la masa corporal. Los tejidos no sexuales que mayor respuesta dan son los músculos y huesos, aunque los riñones y la laringe son relativamente sensibles a los andrógenos. Se demuestra un efecto anabolizante en los estudios metabólicos, con la presencia de un balance positivo de nitrógeno, calcio, fosforo y potasio.

Ejercen los andrógenos un efecto específico sobre el crecimiento del cabello. El cuerpo del recién nacido, excepto el cuero cabelludo y las cejas, está cubierto por un vello fino, suave y de color claro que es el lanugo. Más adelante el pelo de ciertas zonas es sustituido por otro terminal, más largo recio y oscuro.

La cantidad de andrógenos necesarios para que este cambio se produzca, depende de cierto número de factores, entre los que destaca la raza, el sexo y la edad del individuo y el lugar del cuerpo donde se encuentran los folículos. Así el vello púbico y axilar se transforma por la pequeña cantidad de andrógenos producida por la hembra normal al llegar a la pubertad. Se requieren mayores cantidades de andrógenos para la transformación de los folículos pilosos de otras zonas, como el abdomen, espalda y glúteos. Existiría por tanto distintos niveles de umbral para la respuesta.

Se ha debatido mucho sobre el tema de la calvicie, llegando a la conclusión de que además de la presencia de andrógenos de manera continuada, debe existir una predisposición genética.

Sobre la eritropoyesis tienen un importante papel los andrógenos, y sobre todo la testosterona, y los metabolitos $5-\alpha$, a expensas de aumentar la producción de eritropoyetina (ALEXANIAN,

1969).

ACTIVIDAD BIOLÓGICA

La actividad biológica de los andrógenos depende de un gran número de factores. Uno de ellos es la tasa de inactivación y excreción del andrógeno, que depende en gran parte de la unión de éste con las proteínas plasmáticas.

Los andrógenos más débiles pueden convertirse en testosterona en el tejido periférico o en el tejido efector directamente. Para ejercer la actividad androgénica, aunque no para su actividad anabólica, es necesario la conversión en DHT en el tejido efector. La importancia de estos factores depende de la especie animal.

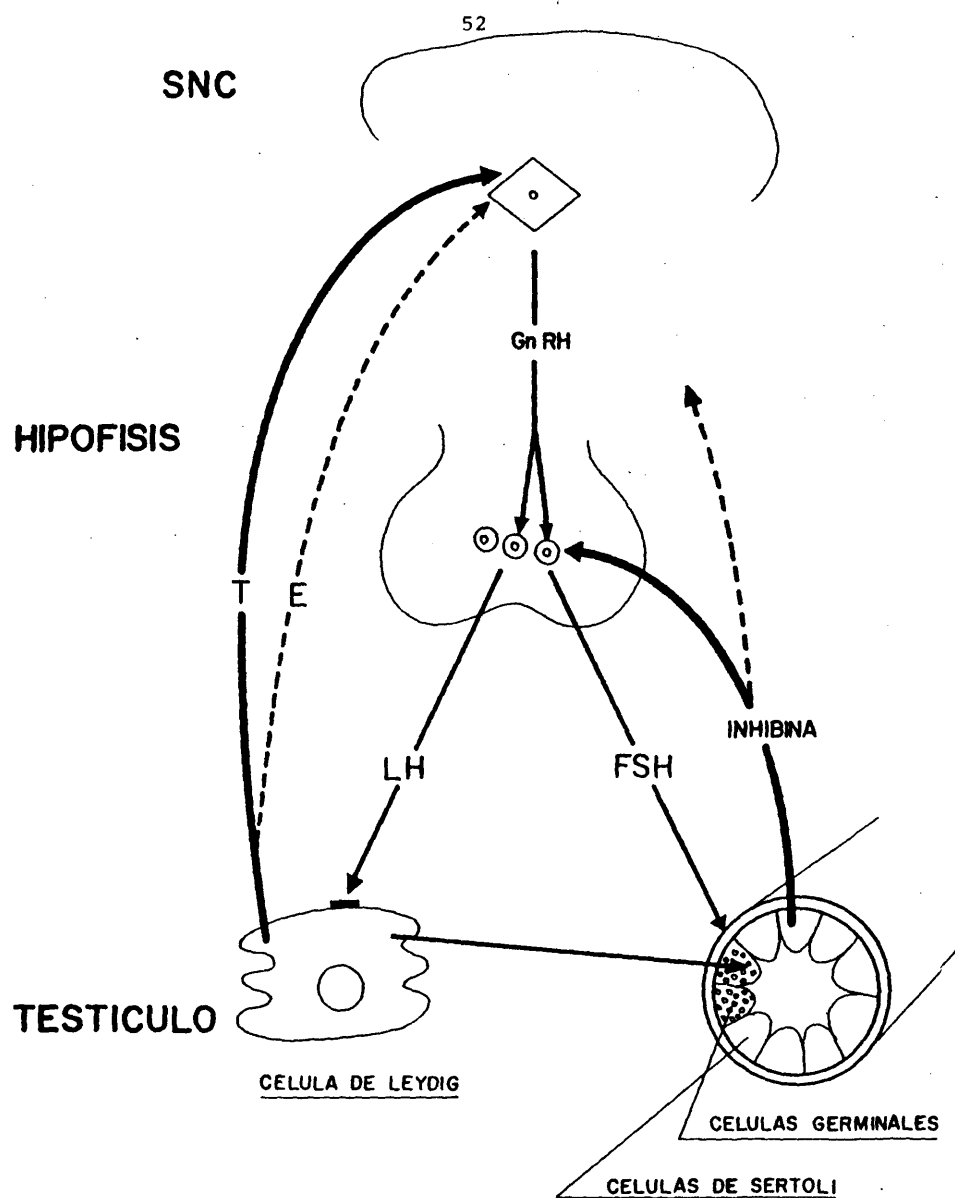
VI - REGULACION DE LA FUNCION HORMONAL

La regulación de la función testicular del varón adulto supone la intervención de tres glándulas endocrinas, el propio testículo, la hipófisis anterior y el hipotálamo. Estas tres estructuras están interreguladas por sus secreciones hormonales. Así el hipotálamo produce el Gn-RH; la hipófisis fundamentalmente la FSH, la LH y la PRL y el propio testículo la testosterona y el estradiol, además de un péptido, del que hablaremos más adelante, de fundamental papel en la espermatogénesis como es la inhibina (Fig. 18).

Los mecanismos fundamentales de regulación siguen el principio de la retroalimentación negativa. Cuando bajan los niveles de testosterona disminuye su efecto inhibitorio sobre el hipotálamo y la hipófisis y se aumenta la secreción de Gn-RH, que a su vez estimula las gonadotropinas. La LH aumentada producirá una elevación de los niveles de testosterona y al revés.

En esquema esto es así y aunque lo analizaremos más en extenso, a continuación hay que dejar sentado que aunque la regulación es fundamentalmente hormonal, además van a intervenir toda una serie de elementos complementarios, que van desde los impulsos nerviosos, hasta el modo de transporte de las hormonas en sangre, su unión a receptores celulares o el concurso de determinadas enzimas intracelulares.

En un intento de llevar un orden de exposición, vamos a comenzar por escalones más altos, es decir por el sistema nervioso, que a través del hipotálamo va controlar (y va a ser controlado, a su vez) a la hipófisis y a la propia glándula efectora, el testículo.



Tomado de Bardin-Yen, 1978

FIG 18 . EJE HIPOTALAMO - HIPOFISO - GONADAL

1. NIVEL HIPOTALÁMICO

Aunque ya desde la antigüedad fue conocido el hecho de que la castración comportaba la imposibilidad de que el individuo pudiera reproducirse, el reconocimiento del papel de hipotálamo en los procesos reproductivos ha ocurrido muy recientemente, en el curso de las cuatro últimas décadas, a pesar de que, durante siglos se había observado las influencias que los factores estacionales o emocionales ejercen sobre los efectos reproductores en las personas y en los animales.

Los primeros en afirmar que el sistema nervioso central estaba involucrado en la regulación de los procesos reproductivos fueron HOHLWEG y JUNKMANN (1932) quienes postularon la existencia de un "Centro Sexual" en el sistema nervioso central sobre la base experimental de que, tras el trasplante a la cámara anterior del ojo de adenohipófisis de animales gonadectomizados, esta no presentaban las típicas células de castración. Poco después MARSHALL y VERNEY (1936) comprobaron que la estimulación eléctrica del SNC mediante electrodos colocados en el paladar y en la base del cráneo inducía la ovulación en conejas en estro previamente anestesiadas.

El como se interconexionaba el hipotálamo y la hipófisis no fue bien conocido durante años. En 1938 RASMUSSEN estableció la falta de inervación secretomotora de la parte distal adenohipofisaria, con lo que se descartaba que el sistema nervioso central pudiera actuar directamente por vía neural sobre la pituitaria anterior.

Sin embargo POPA y FIELDING en 1930 describieron un sistema vascular de vasos portales que conectaban los capilares de la eminencia media con los espacios sinusoides de la hipófisis anterior. Ellos consideraron en un principio que el sentido de la vascularización era ascendente, y así se mantuvo este criterio,

hasta que en 1948 HARRIS demostró que la dirección de la corriente era del hipotálamo a la hipófisis, en una monografía hoy ya considerada clásica.

Al irse concibiendo la idea de que el SNC estaba involucrado en la regulación testicular se centró el interés en cuales podrían ser las estructuras hipotalámicas involucradas. Se iniciaron una serie de trabajos experimentales entre los que merece la pena destacar los de DEY (1941), el cual observó que la destrucción de los núcleos ventromedial y arcuato de la eminencia media del cobayo originaban un estado de anestro con atrofia ovárica.

Estos experimentos han sido confirmados posteriormente por diferentes autores y ampliados los hallazgos, comprobando que lesiones en estructuras hipotalámicas y suprahipotalámicas tienen repercusión en el control de las gonadotropinas. Dentro de estos experimentos hay que mencionar la deaferentación del hipotálamo medio basal. HALASZ y PUPP (1965) (Fig. 19) diseñaron un cuchillo para manejo estereotaxico que permita cortar las aferencias del área hipofisiotropa hipotalamica, correspondiente a la región medio basal. Los animales con estas lesiones quedan con una isla de tejido hipotalamico conectado con la hipófisis, pero aislado del resto de SNC, encontrando una secreción aumentada de ACTH y mantenimiento de la función testicular, pero se producía una cornificación vaginal y disminución del tamaño ovarico. Posteriormente estudio de HALASZ y GORSKI, en 1967, demostraron que para conservar la función gonadotropica ciclica se requería la integridad de las fibras neurales procedentes del área preoptica del hipotálamo anterior.

Quedó bien confirmado al final de los años cincuenta el control hipotalámico de la función gonadotropa hipofisaria, y la hipótesis de HARRIS de que el mecanismo de regulación se realizaría por medios de productos de neurosecreción que vertiéndose al sistema portal era transportado a la hipófisis. Resumiendo, en el hipotálamo existía alguna sustancia capaz de aumentar la secre-

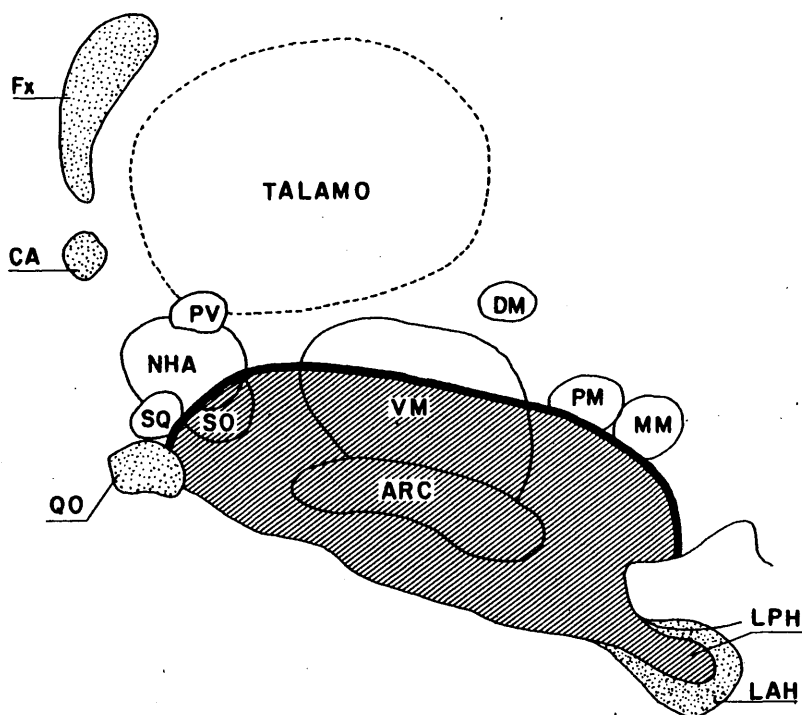


FIG 19 . DESAFERENTIZACION DEL AREA HIPOFISIOTROPA
HIPOTALAMICA DE LA RATA.

FX = Fornix	CA = Comisura anterior
QO = Quiasma óptico	SQ = Nucleo supraquiasmático
NHA = Nucleo supraquiasmático anterior	
PV = Nucleo Paraventricular	SO = Nucleo supraóptico
NVM = Nucleo Ventromedial	ARC = Nucleo arcuato
DM = Nucleo dorsomedial	PM = Nucleo premamilar
NM = N. mamilar medio	LPH = Lobulo post. hipofisario
LAH = Lóbulo anterior de la hipófisis	

ción de LH (Mc CANN y cols 1960 y CAMPBELL y cols 1961).

Poco tiempo después, la presencia de un factor capaz de estimular la secreción de FSH fue demostrado con técnicas "in vitro" (MITTLER y MEITES, 1964) e "in vivo" (IGARASHI y Mc CANN, en 1964).

Estos hallazgos fueron posteriormente confirmados por numerosos autores y hablandose de LH-RF y de FSH-RF y evidenciándose su paso a la sangre del sistema porta-hipofisario, donde pudieron ser detectados (KAMBERI, 1971). Con ello se contestaba a la incognita de como regulaba el hipotálamo la secreción gonadotropa, aunque quedaba por establecer la naturaleza de dichos factores u hormonas hipofisiotrópicas del hipotálamo.

¿De que naturaleza era esta sustancia estimulante de la secreción de gonadotropinas?

En 1964 SCHALLY y BOWERS extrayendo hipotálamos bovinos llegaron a la conclusión de que el LH-RF, era un polipeptido distinto de la ADH y de la oxitocina. Tres años más tarde utilizaron hipotálamos porcinos y tras procedimientos laboriosos como la filtración en gel de Sephadex, cromatografía en columna de carboximetilcelulosa y electroforesis en columna, encontraron que eran capaces de separar una actividad LH-RF y FSH-RF, aunque posteriormente otros autores comprobaron que esto no era cierto (WHITE, 1970). Utilizando 160.000 hipotálamos porcinos lograron obtener un producto de naturaleza polipeptídica con actividad LH-RF y FSH-RF.

El intento de purificación e identificación fue realizado por el grupo de GUILLEMIN en la Jolla y por el de SCHALLY en Nueva Orleans, consiguiendolo este unos meses antes. La naturaleza peptídica del producto natural fue establecido por BABA y SCHALLY en 1971, demostrando que diversas enzimas proteolíticas del tipo de las endopeptidasas inactivaban el producto, en tanto

que este se mostraba resistente a las exopeptidasas.

La secuencia de aminoácidos del LH-RF porcino fue establecida por MATSUO y cols (1975), correspondiendo a un decapeptido (Fig. 20).

La síntesis hipotalámica se realiza por un proceso que no parece ser ribosómico, ya que no se inhibe con puromonina ni con actinomicina D y parecen ser necesarios varios pasos enzimáticos que requieren Mg^{++} y ATP como cofactores.

Una vez realizada la síntesis, esta sustancia pasa por los vasos porta a la adenohipofisis, aunque también se distribuye en la circulación general, donde puede ser detectada por finos métodos de radioinmunoanálisis. ARIMURA (1975) ha conseguido detectar el Gn-RH en mujeres y BURGUINON ha encontrado una concentración basal en el hombre de 5 a 50 picogramos/mililitro.

El Gn-RH estimula la síntesis y liberación "in vivo" e "in vitro" de ambas gonadotropinas, aunque parece ser más selectivo para la LH que para la FSH.

Por ello hoy en día se cuestiona si existiría una hormona de liberación independiente para la FSH. En este sentido estaba la comunicación de BOWERS y cols en 1973, quienes describieron una fracción hipotalámica de la rata que era capaz de liberar específicamente FSH, aunque esto no ha sido confirmado posteriormente.

Por otro lado se sabe que en el hipotálamo se segregan péptidos estimulantes y péptidos inhibidores. Hasta 1975 no había ningún dato en la literatura sobre la existencia de una hormona hipotalámica que ejerciera una función inhibitoria de las gonadotropinas (LH-IH o L-IH). JOHANSON y cols (1975) encontraron un factor, al que denominan factor C-LHIH, capaz, según ellos, de inhibir la suelta de FSH y LH tras la administración de Gn-RH.

(Piro) GLU-HIS-TRP-SER-TYR-GLY-LEU-ARG-PRO-GLY(NH₂)

58

FIG 20. SECUENCIA DE AMINOACIDOS DEL Gn-RH

En el momento actual no esta claro si esta sustancia es un verdadero inhibidor de las gonadotropinas o es un efecto observado en un peptido, que tenga otra misión y esto sea un efecto colateral. De cualquier forma si su existencia se llega a confirmar, es posible que tuviera una gran importancia en la fisiología de la reproducción.

Interrelacionadas con esta Gn-RH, existen a nivel hipotalámico otras sustancias, como el factor inhibidor de la prolactina (PIF), que hoy sabemos que no es un peptido sino posiblemente un neurotransmisor, la dopamina, que parece jugar un papel importante en la liberación de Gn-RH en los nervios hipotalámicos (BENNET y cols 1975). Quizá tambien desempeñe un cierto papel en la secreción de gonadotropinas la hormona liberadora de tirotropina, ya que además de liberar TSH y prolactina - y por esta vía modificar la secreción de gonadotropinas - además hay quien ha postulado que específicamente libera pequeñas cantidades de FSH (MORTIMER, 1973).

Las prostaglandinas, omnipresentes en todos los territorios de la economía, se pensó que podrían actuar a nivel hipotalámico quizá como transmisores sinápticos, aunque posteriormente se ha comprobado que tienen un papel modulador. Tanto la PGE_2 (HARMS, OJEDA y Mc CANN, 1974) como la $PGF_{2\alpha}$ (LABHSETWAR, 1973) incrementan la secreción de LH, y parece ser que hay una interacción entre la dopamina y la PG. Tambien se ha sugerido la posibilidad de que la PGE desempeñara un papel en relación con el control dopaminérgico de la liberación de PRL. En este caso, el efecto de la dopamina queda inhibido por la administración intravascular de la PGE.

2. NIVEL HIPOFISARIO

La adenohipofisis humana segrega dos gonadotropinas que son de gran importancia para el control de la función testicular: La hormona foliculo-estimulante (FSH) y la hormona estimuladora de las células intersticiales, llamada en tiempo ICSH, aunque en la literatura mundial se la conoce como LH, y así la denominaremos.

Desde el punto de vista químico, ambas son glucoproteínas. La FSH tiene un P.M. entre 30.000 y 40.000 y la LH oscila entre 25.000 y 33.000.

Las cadenas alfa de ambas son similares a la de la TSH, sin embargo la cadena β es diferente para cada una de ellas, y es la que les confiere no solo su especificidad de acción a cada una de estas hormonas, sino también su especificidad de especie. Aún no se ha conseguido su síntesis, por no conocerse exactamente su secuencia de aminoácidos, aunque en las Figs. 21 y 22 se puede ver una propuesta de secuencia desarrollada por SHOME y PARLOW en 1974.

Según la corriente actual, ambas gonadotropinas se producirían en un mismo tipo celular de la adenohipofisis: en las llamadas células gonadotrópicas.

Por métodos radioinmunológicos se puede detectar FSH en la hipófisis fetal desde la 14 semana de vida. En el hombre durante su época fértil, la hipófisis contiene unas 700 U.I. de FSH y 200 U.I. de LH.

La secreción de estas hormonas se produce en el hombre de una manera tónica o continuada, aunque sobre ella existen cambios de corta duración, a modo de pulsaciones, que aparecen a intervalos de 30 a 300 minutos. La velocidad y magnitud de estas

hFSH

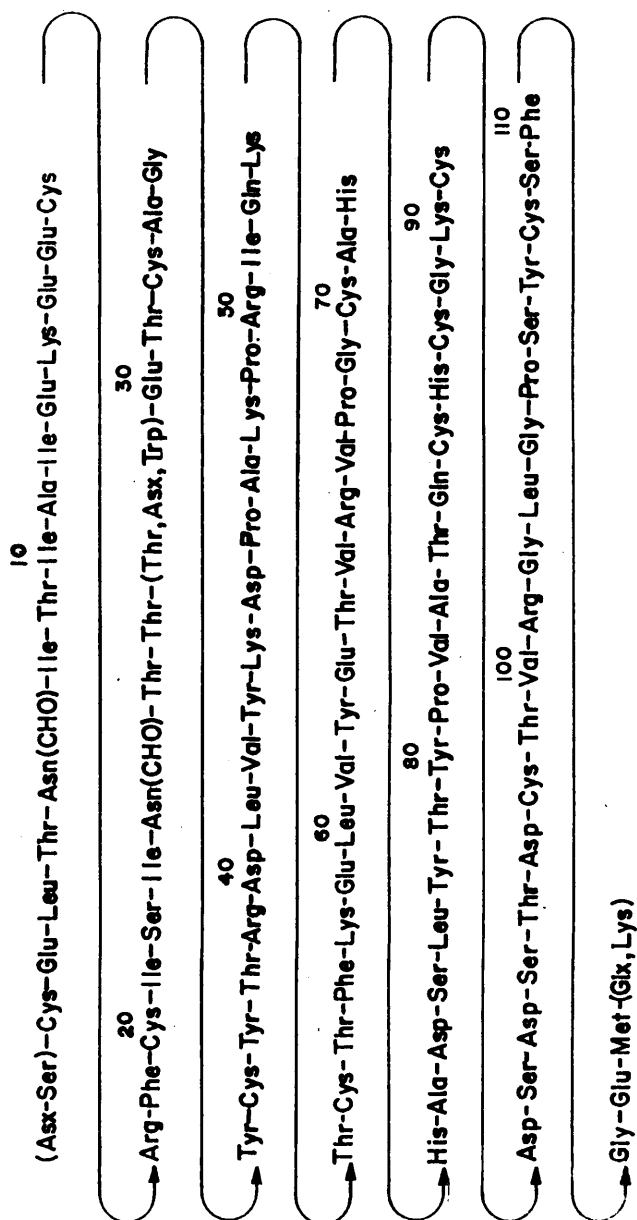


FIG 21. Propuesta de secuencia de aminoacidos de la subunidad de la FSH
(Tomado de SHOME y PARLOW, J.Clin. Endocrinol. Metab. 1974).

β h LH

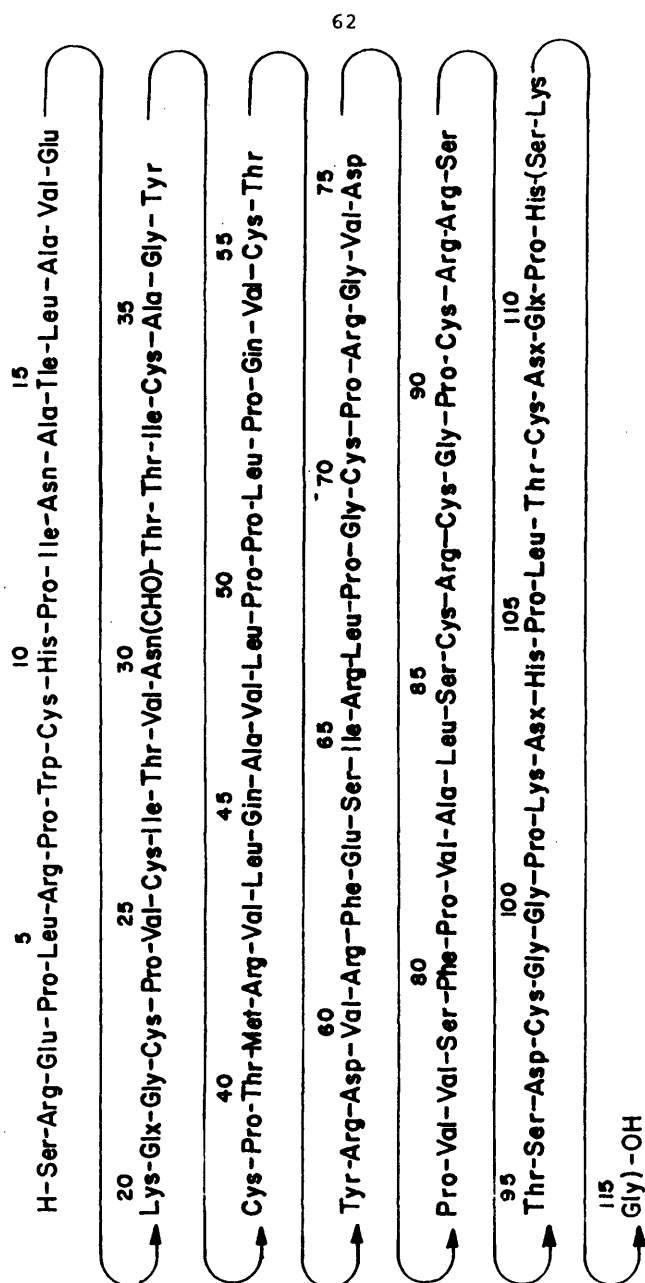


FIG 22. propuesta de secuencia de aminoacidos de la subunidad de la LH.
 (Tomado de SHOME y PARLOW, J. Clin. Endocrinol. Metab. 1973).

ondas pulsátiles son influidas por muchos factores como la edad, el sexo y los niveles de hormonas esteroideas. En el hombre a partir de los 50 años se van elevando la FSH y la LH simultáneamente al progresivo descenso de la testosterona.

En la vida adulta del varón sus concentraciones plasmáticas vienen a ser de 6-12 mU/ml tanto para la FSH como para la LH. La vida media de ambas es de 30-60 minutos dependiendo de su contenido en ácido fólico, que es el que les confiere su actividad biológica y su supervivencia en plasma, evitando su catabolismo en el hígado. Así la HCG (gonadotropina coriónica humana), que se comporta como la LH a nivel de las gonadas por tener mucho más contenido en ácido fólico, tiene una vida media mayor, de alrededor de una 8 horas.

Actúan ambas gonadotropinas estimulando el testículo. Así cuando la espermatogénesis disminuye, sobre todo si está detenida antes de la formación de espermátides, aumenta la concentración de FSH en forma proporcional al grado de oligospermia. La disminución de la testosterona plasmática produce un aumento de la LH, a través de un mecanismo hipotalámico que al parecer requiere la transformación "in situ" de la testosterona en estradiol, sin que intervenga directamente la dehidrotestosterona.

La prolactina (PRL) es una hormona que se forma en las células lactotropas hipofisarias. La hipófisis humana contiene unos 100 microgramos. Posteriormente pasa a la sangre y en los varones se encuentra a una concentración de 6-8 ng/ml. Durante mucho tiempo se ha desconocido su función en el varón, aunque había sugerencias de que jugaba algún papel en la regulación testicular. BARTKE (1974) observó que en los roedores, la PRL sinergiza con la LH en la estimulación de las células de Leydig, aumentando la conversión de colesterol en testosterona. Sin embargo esta correlación entre la prolactina y la testosterona puede existir dentro de un amplio rango. Así por el contrario, THORNER y cols (1977) han demostrado que la hiperprolactinemia en el hombre in-

terfiere la síntesis de testosterona. Está claro, hoy en día, que la HCG sola mantiene la función de las células de Leydig en hipofisectomizados, en los cuales no existe prolactina, aunque se piensa que esta hormona puede modular la respuesta a las células de Leydig (BESSER, 1972, THORNER, 1974).

En el hombre se ha comprobado la existencia de hiperprolactinemia en asociación con un cierto grado de hipogonadismo en algunos enfermos, aunque los niveles de gonadotropinas y testosterona son generalmente normales.

El aumento de los niveles de prolactina produce una reducción en la conversión de testosterona y dihidrotestosterona, sugiriendo que el hipogonadismo clínico en hombres hiperprolactinémicos pudiera ser debido a una producción disminuida de los metabolitos, 5- α -reducidos de la testosterona (MANGRINI, 1976). Este aserto queda confirmado en experimentación animal, y así en ratas hiperprolactinémicas TRESGUERRES y cols (1979) observan que se produce también inhibición testicular.

3. NIVEL TESTICULAR

Los testículos desempeñan las funciones principales como ya ha quedado constatado anteriormente; la espermatogénesis o producción de células germinales, y la esteroidogénesis o síntesis y posteriormente secreción de hormonas esteroideas.

La ESPERMATOGENESIS es el proceso de desarrollo y maduración de las células germinales en el epitelio de los tubulos seminíferos. La membrana basal de estos tubulos se halla cubierta por espermatogonias que, como se ha visto anteriormente, van progresando hacia el interior del tubulo convistiéndose en espermatocitos y espermatídes, hasta llegar a formar los espermatozoides maduros que están situados en la luz del túbulo. Desde los estudios

de CLERMONT (1972) se sabe que tienen que ocurrir seis etapas - para que se produzca un ciclo de la espermatogénesis. Se producen cuatro ciclos, siendo el tiempo total de maduración de los espermatozoides en el hombre de 74 días aproximadamente.

El otro componente de los túbulos seminíferos son las células de Sertoli, que además de poseer una función estructural, protectora y nutritiva, son capaces de producir hormonas esteroideas, como la testosterona, a partir de precursores tales como la pregnenolona y la 17-OH progesterona, aunque hay quien opina que la testosterona se forma en el intersticio y luego es transportada por vía linfática a los túbulos (VAN DER MOLEN y cols 1973). El tejido tubular humano también puede convertir los precursores en testosterona (BELL y LACY, 1974), pero es más difícil separar los testículos humanos en túbulos y células intersticiales. Los resultados controvertidos y la posibilidad de diferencias entre especies hacen que resulte difícil afirmar con entera seguridad que la esteroidogénesis fuera de las células de Leydig desempeñe un papel importante en los testículos humanos.

Además las células de Sertoli sabemos que producen una sustancia inhibidora de la FSH, que en un principio se consideró de naturaleza esteroidea y a la que se ha llamado inhibina. Se supone que esta sustancia está relacionada con los cuerpos residuales de los espermatozoides maduros, que al ser fagocitados por las células de Sertoli, alteran la función secretora de éstas, liberándose una sustancia que frenaría, a nivel hipofisario a la FSH. FRANCHIMONT y cols hacen muy recientemente (1979) una revisión de las características de esta sustancia, y opinan que es de naturaleza proteica ya que su actividad es destruida por la tripsina y pepsina.

Su peso molecular es aún desconocido, aunque es inferior a 100.000 y se han encontrado dos tipos de inhibina, una de alto y otra de bajo peso molecular. Parece ser que frena la síntesis y liberación de FSH en las células hipofisarias, y no modifi-

ca la secreción de LH, salvo a dosis suprafisiológicas. Además reduce el contenido de Gn-RH en cultivos hipotalámicos (SETCHEL, 1977) y no modifica la GH, TRH ni PRL, en cultivos "in vitro" ni "in vivo". Además en las células de Sertoli y bajo el estímulo de la FSH se segrega una proteína tubular que es capaz de unirse a la testosterona y a la DHT (HANSON, 1974). Esta proteína denominada ABP (Androgen Binding Protein) depende también para su secreción de la presencia de testosterona y es imprescindible para el normal funcionamiento de los túbulos seminíferos. La ABP con un peso molecular de 150.000 es muy parecida a la proteína plasmática transportadora de hormonas sexuales (SHBG) y tiene como función mantener el aporte androgénico a los túbulos seminíferos (TAMM, 1975).

La ESTEROIDOGENESIS es el proceso mediante el cual se produce la síntesis y secreción de esteroides a nivel testicular. Ya hemos visto en otro apartado que la biosíntesis de testosterona se produce en los testículos mediante dos procesos más: el Δ^5 con la prenenolona, 17- α -hidroxipregnenolona, dehidroepiandrosterona y 5 androstendiol, como intermediarios, y el Δ^4 con la progesterona, 17- α -hidroxiprogesterona y androstendiona, como sustancias intermedias. Parece ser que una parte de estos compuestos se filtran hacia el interior de la vena espermática y por tanto se convierten en productos de secreción testicular. La 17- α -hidroxiprogesterona es el metabolito más importante segregado por el testículo después de la testosterona y su tasa de producción es de una cuarta parte al de la testosterona, con una media de 1,8 mg al día en varones normales.

Los estrógenos se forman por la aromatización de la testosterona a estradiol y de la Δ^4 androstendiona a estrona. Van a tener una gran importancia, sobre todo el estradiol, a nivel intratesticular e hipotalámico.

INTEGRACIÓN DE LOS SISTEMAS DE CONTROL

Las hormonas hipofisarias ya hemos visto que regulan las funciones testiculares, pero a su vez ellas están controladas por niveles más altos; hipotálamo y sistema nervioso central. Los mecanismos fundamentales de regulación, entre todas estas estructuras siguen el principio de la retroalimentación negativa. Así cuando bajan los niveles de testosterona, disminuye su efecto inhibitorio sobre el hipotálamo, y se aumenta la secreción de GnRH que a su vez estimula las gonadotropinas. La LH aumentada produciría una elevación de los niveles de testosterona y al revés.

Sin embargo esto no es tan sencillo, ya que el estradiol que se segrega a nivel testicular, desarrolla también un papel regulador sobre ambas gonadotropinas. Si administramos exógenamente testosterona o estradiol, observamos que este último presenta una mayor capacidad de frenación sobre la adenohipófisis (STEWART-BENTLEY ODELL y MORTON, 1974). También sabemos que la testosterona es capaz de ser aromatizada a estradiol en diferentes áreas hipotalámicas por lo que podría ser ésta la vía de actuación en el mecanismo feedback fisiológico. La DHT no está confirmado que ejerza acción inhibitoria sobre las gonadotropinas, ya que no parece probable que pueda entrar en las células del hipotálamo o de la hipófisis para provocar efectos retrógrados.

Las hormonas gonadotrópicas hipofisarias parecen controlar en parte la producción de LHRH mediante un mecanismo de feedback negativo hipotalámico habiéndose especulado por MARTINI (1975) la existencia de un feedback negativo ultra corto entre la propia LHRH y el hipotálamo. En última instancia, tanto la LHRH como las gonadotropinas están reguladas por las hormonas periféricas.

Respecto a la influencia del sistema nervioso central sobre la función testicular, parece que se realiza a través del

hipotálamo o directamente por vía simpática (vía neurogonadal simpática de SOULAIRAC), como lo confirma el hecho de la influencia sobre la función sexual de los factores ambientales, factores emocionales, etc.

El mecanismo de acción de las gonadotropinas se realiza a través de la estimulación del AMP cíclico en el testículo. La LH actúa directamente sobre los elementos mesenquimales intersticiales que dan lugar a la secreción de testosterona y estrógenos y también es imprescindible su acción sobre la espermatogénesis, aunque su efecto no es directo, sino a través de la secreción de testosterona. La FSH actuado sobre los túbulos seminíferos induce y mantiene la espermatogénesis normal. La LH se fija a las células de Leydig y en menor cuantía a las células peritubulares, estando demostrado que la testosterona inhibe su secreción a través de un mecanismo de feedback negativo a nivel hipotalámico, siendo más dudoso que actúe directamente sobre la hipófisis.

Con respecto a la FSH no está tan claro su mecanismo de regulación: parecen ser las células de Sertoli el tejido diana. Estas células producen el ABP (Androgen Binding Protein) que hace posible el paso de la testosterona del intersticio al túbulo seminífero, lugar donde se forma una sustancia de naturaleza proteica que parece ser la encargada de la regulación de la FSH: la inhibina.

Cuando se inyecta una preparación no purificada de inhibina se observa un efecto feedback de tipo lento, ya que se tardan más de 12 horas en reducir los niveles de FSH, según ha demostrado LEE en 1976.

No hay uniformidad de criterios en cuanto al paso de la inhibina desde el túbulo seminífero a la sangre para ejercer el mecanismo de retroalimentación negativo. SETCHELL (1977) ha sugerido que sea a través de los linfáticos o de las venas, descartando un posible paso desde la rete testis, aunque aquí también se ha detectado esta sustancia.

BAKER (1976) ha comprobado que la acción inhibitoria de la inhibina se realiza a nivel hipotalámico, suprimiendo "in vitro" la secreción de Gn-RH, aunque en la actualidad existen dudas de esta afirmación y parece más probable que el efecto sea a nivel hipofisario, ya que al administrar inhibina más Gn-RH aumenta la LH y no se modifica la FSH (FRANCHIMONT y cols 1975).

Por si fuera poco las interrelaciones entre el testículo y el hipotálamo o la hipófisis se complican aun más si tenemos en cuenta que en ciertas situaciones se encuentran disminuciones de los niveles de testosterona sin modificarse los niveles de LH, son con el stress operatorio (LORENZO y ORIOL, 1974), la sobrecarga oral de glucosa (TRESGUERRES y cols 1974) y la administración de ACTH y adrenalina (TAMM, 1975).

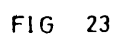
Por último las prostaglandinas intervienen en la regulación de la LH (TRESGUERRES, 1977) a través de la estimulación del Gn-RH, y la PRL inhibe la secreción de testosterona por un mecanismo complejo, en el cual intervendría la disminución de las gonadotropinas.

Todo este oscuro, en algunos casos, y abigarrado mecanismo vamos a intentar reproducirlo en la Fig. 23, modificado de JEFFCOATE.

VII.- EVALUACION DE LA FUNCION TESTICULAR

Los trastornos testiculares pueden aparecer clínicamente como androgenización deficiente o trastornos de la fertilidad, aunque en muchos casos se combinan ambas alteraciones.

La sospecha diagnóstica suele ser sugerida por la clínica y se requiere una cuidada anamnesis, valorando alteraciones morfológicas genitales, edad en que tuvo la pubertad, anteceden-



tes de afecciones testiculares, tanto esporádicas (orquitis, criptorquidía, gonococia, etc.) como familiares, afecciones neuropsiquiátricas, enfermedades generales, etc. Asimismo es fundamental la palpación testicular, que nos dará información sobre el tamaño del testículo, así como de la existencia de cualquier alteración grosera.

La confirmación diagnóstica viene dada por una serie de exploraciones que incluyen el estudio radiológico de la silla turca, de las muñecas, cariotipo cromosómico, vasografía, biopsia testicular, análisis del semen y determinaciones hormonales. Aquí vamos a estudiar detenidamente estas últimas, haciendo una pequeña reseña del espermiograma.

ANÁLISIS DEL SEMEN

Es fundamental para valorar la infertilidad. Durante años, y basándose en consideraciones morales, los médicos se han mostrado reticentes para obtener muestras de semen en los desórdenes del sistema reproductivo que no fuera la esterilidad propiamente dicha, aunque es una prueba que, en ocasiones, puede ser de tanto valor como algunas determinaciones hormonales.

Es de gran trascendencia para valorar la función tubular.

Hay diferentes métodos de recogida, aunque el más preciso y generalizado es el de la masturbación, después de 3-5 días de abstinencia sexual. El coitus interruptus puede, en ocasiones, dar lugar a muestras incompletas y la recogida con preservativos, conduce a veces a resultados erróneos, ya que pueden existir a veces agentes espermicidas en su composición.

El transporte del espécimen ha de ser en un recipiente bien limpio, aunque no es necesaria su esterilización. El examen

se practicará como máximo una o dos horas después de la emisión.

Se debe estudiar:

- Desde el punto de vista macroscópico es fundamental el aspecto del líquido, que en un principio es blanquecino, translúcido y flocular, y a los pocos minutos es ya espeso y opalescente.

El volumen normal viene a ser entre 3 y 6 cc. denominándose hiperespermia cuando el eyaculado es superior a 6 cc. hipoespermia, cuando hay menos de 2 cc. y aspermia cuando hay ausencia de volumen.

- Desde el punto de vista microscópico consideraremos normal la cantidad de 50-100 millones de espermios por c.c. Se afecta la fertilidad cuando hay menos de 20 millones.

Cuando el número está disminuido hablaremos de oligospermia, en la que podemos considerar tres grados.

- 1º grado = entre 30-50 millones por c.c.
- 2º grado = entre 10-30 millones por c.c.
- 3º grado = menos de 10 millones

Si los espermios están muertos o la motilidad es pequeña se la designa con el nombre de necropermia, y en los casos que no hay espermatozoides, aunque existan células germinales en los túbulos se hablará de azoospermia.

Un aspecto fundamental es el de la morfología. Habitualmente son normales más del 60% de los espermios. De esta proporción depende la fertilidad, ya que BOTELLA (1953) demostró que los espermios anormales, son incapaces de atravesar en línea recta un tubo que contiene un medio azucarado. Se habla de teratopermia cuando hay más del 40% de formas anormales.

Otro aspecto a estudiar es la motilidad teniéndose únicamente en cuenta aquellos que desarrollan movimientos rectilíneos. Tras la emisión del semen, en condiciones normales, suelen existir un 90% de formas móviles en el eyaculado, descendiendo este porcentaje al 60% a las cuatro horas y al 15-20% a las 24 horas.

Cuando el número de formas móviles es menor del 50% se denomina astenospermia.

La velocidad de progresión en un medio de Ringer-fructuosa, es de 5,48 cm. en una hora.

Con arreglo a estos parámetros se han arbitrado una serie de índices de fertilidad. En nuestro medio se considera el Índice de BOTELLA-CASARES: responde a la fórmula: $MNV/A \cdot 10^9$ y se considera normal con capacidad fecundante cuando esta relación es igual o superior a la unidad.

M es el tanto por ciento de espermios móviles; N el número de espermatozoides por c.c.; V es la velocidad de progresión en medio azucarado (habitualmente Ringer-fructosa) en c.m. por hora; A el tanto por ciento de formas móviles.

- Composición del líquido espermático: se debe valorar su pH que debe oscilar entre 7 y 7.4. Debe ser rico en fructuosa (100-500 mg), en ácido cítrico (100-1000 mg), en colina y fosfatasa ácida. No hay que olvidar que la secreción de estas sustancias depende de los andrógenos testiculares.

La existencia de pH ácido, fructosa disminuida y empobrecimiento de colina, disminuyen la capacidad fecundante.

- Estudios inmunológicos. Han sido descritos una gran variedad de anticuerpos contra los espermatozoides y los componentes del líquido seminal (ALEXANDER, 1977). Se han descrito dos tipos de anticuerpos: aglutinantes del esperma e inmovilizantes

del esperma (ISOJIMA, 1968).

Además se pueden encontrar sangre (hemospermia) o signos de infección con presencia de leucocitos en el semen.

Aunando todos estos criterios, y atendiendo a la capacidad fecundante del esperma, podemos hallar diferentes estadios:

- * ASPERMIA = Carencia de volumen.
- * AZOOSPERMIA = La presencia de azoospermia sin que se encuentren células de espermatogenesis (0,5 - 3 por cada cien espermatozoides) indica obstrucción completa bilateral o lesión muy importante de los túbulos seminíferos. Si existen células de espermatogenesis significa bloqueo de la maduración espermática a nivel del testículo.
- * ESPERMA MUY DEFICIENTE = Cuando existen menos de dos millones con astenospermia y necrospermia del 80%.
- * ESPERMA MEDIOCRE = Se habla de tal, cuando existe una cifra entre dos y veinte millones de espermatozoides por c.c., con un cierto grado de astenospermia, motilidad entre el 20% y 40% y teratospermia del 30%.
- * ESPERMA DE VALOR FECUNDANTE LIMITE = Es aquel que presenta oligospermia entre 20 y 60 millones por c.c., astenospermia en pequeña cantidad, con motilidad del 60% y teratospermia de menos del 20%.

Las dos primeras formas expuestas conducen a una esterilidad definitiva, y en las otras ya ha quedado expuesta la cantidad

de su grado.

DETERMINACIONES HORMONALES

Hoy en día disponemos de un amplio arsenal de pruebas, con ayuda de las cuales podemos establecer el estado del eje hipotalamo-hipofisotesticular

Como índices de función vamos a considerar los productos de secreción testiculares, como la testosterona y sus metabolitos, hipofisarios, a través de la determinación de FSH y LH, e hipotalámicos, como el Gn-RH. A veces no es fácil determinar algunos de estos parámetros y tendremos que recurrir a otros índices de tipo indirecto.

Consideraremos por un lado las determinaciones estáticas, tanto en sangre como en orina, así como las pruebas dinámicas, de interés prioritario en esta tesis doctoral:

A) DETERMINACIONES ESTATICAS

Las dividiremos en:

A-1) en orina

A-2) en sangre

A-1) URINARIAS

A-1.1 - 17 - CETOSTEROIDES URINARIOS

Mide los metabolitos urinarios de las hormonas andro-

génicas que presentan un grupo $\text{CH}_2\text{-CO}$.

Las cifras normales son de 10-20 mg/día para el hombre, aunque hay que tener en cuenta que solo una tercera parte corresponde a un origen testicular, proviniendo el resto de las suprarrenales.

Es una prueba orientativa, pero no específica de la función testicular.

A-1.2 - CETOSTEROIDES FRACCIONADOS POR CROMATOGRAFIA DE GASES

Con este método se separan y cuantifican los metabolitos de esteroides neutrales, dándonos un perfil de sus concentraciones urinarias. Es de gran importancia para diagnosticar alteraciones enzimáticas que aparecen en los síndromes adrenogenitales y en el campo que nos ocupa, los trastornos de la 5-alfa-reductasa que se observa en el síndrome de Morris y en los pseudohermafroditismos masculinos.

Es una técnica compleja, que no se suele prodigar rutinariamente, y de la que en nuestro medio tiene una gran experiencia la Dra RUIZ GONZALEZ (1976).

A-1.3 - TESTOSTERONA URINARIA

La testosterona se elimina por la orina sin alterar su estructura en una proporción del 1-2 % combinada como sal del ácido glucurónico.

Hay datos en la literatura, suficientes para considerar la medición del glucuronato de testosterona como un magnífico índice de la función testicular.

No obstante durante años la medición era laboriosa, ya que había que hidrolizar la orina, extraer la testosterona con solventes orgánicos y posteriormente purificarla, bien por métodos colorimétricos, con cromatografía de gases ó mediante radioinmunoanálisis.

En 1976 TRESGUERRES y cols desarrollaron un método radioinmunológico, con el que se cuantifica directamente el glucuronato de testosterona en una alícuota de 10 microlitros de orina sin necesidad de extraer ni purificar, lo cual restringe el tiempo de medida y suprime la suma de errores posibles en los distintos pasos, por lo cual constituye un buen método de valoración. Las cifras normales obtenidas en el varón son de 164 ± 51 microgramos en 24 horas. Nos proporciona un índice adecuado del funcionalismo testicular ya que integra la producción de testosterona en 24 horas.

Su fundamento es la obtención de anticuerpos de gran especificidad contra el glucuronato de testosterona.

A-1.4 - GONADOTROPINAS URINARIAS

Estas mediciones tuvieron gran predicamento hace años. Se realizaban con test biológicos que valoraban el crecimiento del útero de ratones inmaduros (ZONDEK, 1930). Eran de todas maneras poco fiables y hoy en día están abandonadas.

A-2) PLASMATICAS

A-2.1 - TESTOSTERONA PLASMATICA

Es la prueba ideal para la valorar la función del testículo, ya que mide la hormona circulante. Dentro de los métodos

empleados el de mayor difusión es el radioinmunoanálisis (TRES-GUERRES y cols 1975).

La medición se realiza en 0,2 a 0,5 mililitros de plasma que es extraído con éter ó diclorometano, cuantificándose la hormona en una alícuota del extracto. Las cifras obtenidas con este método son de 550 ± 100 nanogramos/100 mililitros en los varones.

Hay que hacer una consideración importante, y es que como la secreción es episódica, en picos, una sola determinación en plasma puede conducir a errores diagnósticos, por lo que en condiciones basales es recomendable hacer un "pool" con dos ó tres muestras de plasma obtenidas a intervalos de diez ó veinte minutos.

A-2.2 - 17- α -OH-PROGESTERONA

Es el producto hormonal más importante segregado por el testículo después de la testosterona.

Desde 1970 se han descrito una serie de métodos para la medición de 17- α -OH-Progesterona, sola ó en combinación con otros andrógenos (testosterona, Δ^4 -androstenediona y dehidroepiandrosterona), pero no ha sido hasta 1976 en que FOREST consigue un antisuero específico contra el 3-(O-carboximetil) - derivado de la 17- α -OH-progesterona inmunizando a conejos y desarrollando a partir de aquí un RIA específico. Con el se obtienen unas cifras de 118 ± 34 ng/ml en varones normales.

A-2.3 - ESTROGENOS PLASMATICOS

Por sus pequeñas concentraciones, del orden de picogra-

mos por mililitro, no han podido ser medidos de rutina hasta la aparición del Radioinmunoanálisis. Dependiendo de la especificidad del anticuerpo, se pueden determinar tras una extracción con éter a partir de 1 mililitro de plasma, bien los estrógenos totales plasmáticos ó bien solamente algunos de ellos como por ejemplo el estradiol. Para ello suele ser necesario intercalar una fase de purificación cromatográfica (TRESGUERRES, 1974).

El estradiol es secretado por el testículo y se encuentran en valores normales cifras por debajo de 40 picogramos por mililitro.

A-2.4 - FSH Y LH PLASMATICAS

La introducción de métodos de RIA ha permitido también la valoración plasmática de hormonas glicoproteicas como la LH y la FSH. La medición se realiza en suero ó en plasma.

Al no existir patrones hormonales puros para expresar los resultados se utilizan una serie de preparados de referencia internacionales, obtenidos en extractos urinarios ó hipofisarios, como son el LER-907 ó el 2°IRP-HMG, y los resultados se expresan en miliunidades internacionales (mUI).

Los valores normales en el varón oscilan entre 5 y 10 mUI/ml.

Cuando exista un fallo global testicular primario, se encontrarán elevadas ambas gonadotropinas. Si la alteración afecta solamente a los tubulos seminíferos se elevará la FSH, y si hay ausencia, disminución ó alteración del tejido intersticial, se elevará la LH.

Cuando disminuyan ambas gonadotropinas estaremos ante

Cuando disminuyan ambas gonadotropinas estaremos ante un fallo hipofisario o hipotalámico, del que saldremos de dudas mediante el empleo de Gn-RH.

A-2.5 - SEX HORMONE BINDING GLOBULIN O DETERMINACION DE LA TESTOSTERONA LIBRE

Para valorar la testosterona activa a nivel celular se puede determinar bien la testosterona plasmática total conjuntamente con la SHBG o la testosterona libre por un método de dialisis en equilibrio.

Cualquiera de ellos son indicadores fiables de la testosterona disponible en los tejidos.

A-2.6 - PROLACTINA

A pesar de la acción sinérgica de la prolactina con la LH en roedores, THORNER (1974) ha demostrado que la hiperprolactinemia en el hombre interfiere la síntesis de testosterona. Este mismo autor en observaciones posteriores (1977) opina que la hiperprolactinemia puede producir impotencia independientemente de su acción sobre la secreción de testosterona.

No obstante el mecanismo por el cual la prolactina influye la conducta sexual aun es desconocido, especulándose con que esta hormona puede actuar directamente en el hipotálamo o en la hipófisis, interfiriendo la síntesis y producción del Gn-RH o de las propias gonadotropinas hipofisarias.

La determinación de PRL en plasma puede ser de gran interés en muchas ocasiones, encontrando cifras normales

de 12 ± 4 ng/ml en el varón.

B) DETERMINACIONES DINAMICAS

Para determinar el origen testicular, hipofisario o hipotalámico de las alteraciones del eje, a veces no basta con las mediciones de las hormonas en condiciones basales, sino que tenemos que recurrir a las pruebas dinámicas de estimulación, en las que debemos considerar:

- nivel testicular = Pruebas de estimulación con HCG.
- nivel hipofisario = Pruebas de estimulación con Gn-RH
- nivel hipotalámico = Pruebas de estimulación con clomifeno.

B-1 - PRUEBA DE ESTIMULACION CON HCG

Como parametros a medir se pueden utilizar tanto la testosterona plasmática como el glucuronato de testosterona, la 17- α OH-progesterona e incluso los 17-cetosteroides urinarios.

Los puntos de administración, la vía y la duración no están en absoluto sistematizados, por lo que uno de los objetivos primordiales de esta tesis doctoral es un intento de sistematizar esta prueba. Así cada autor utiliza una dosis determinada que varía entre 1000 a 6000 UI/día, administrada durante periodos de uno a cinco días (KIRSCHNER, LIPSETT y COLLINS, 1965; SAEZ y BERTRAND, 1966; BARDIN y cols 1969; RIVAROLA y BERGADA, 1970; WINTER y TARASKA, 1972; PERHEETUPA y cols 1972; VIVANCO y cols 1975; MAU

RER y cols 1973; LUNENFELD, 1973; WEINSTEIN y cols 1974; MAHOU-DEAU y cols 1975; TRESGUERRES y cols 1976; SAEZ y cols 1978; 1979 etc).

En esencia, el proposito de esta prueba es separar los hipogonadismos de origen testicular de los de origen hipofisario o hipotalámico. Mientras que en los primeros no se observara ninguna respuesta, en los segundos y terceros, después de periodos más o menos largos de latencia, el testículo responde con elevación franca de su producción hormonal.

B-2 - PRUEBA DE ESTIMULACION CON Gn-RH

Se debe realizar, midiendo la LH y FSH en plasma, por la mañana. A las 9 horas, extracción de dos muestras con intervalo de 10-15 minutos, con lo que se hace un "pool" para determinación de gonadotropinas basales. A continuación se realiza la inyección intravenosa rápida de 100 ug de un Gn-RH sintético, y se extraen posteriormente sangre a los 15, 30 y 60 minutos, encontrándose en general la máxima respuesta a los 30 minutos.

Si la hipofisis funciona normalmente habra una elevación de los niveles de FSH y LH, sobre todo de esta ultima, la falta de respuesta hara pensar en un origen hipofisario.

No obstante en algunas ocasiones, como a veces se observa en el síndrome de Maestre de San Juan-Kallman, puede apreciarse una falta de respuesta al estímulo agudo, aunque si se inyecta durante 4-6 días Gn-RH por vía intramuscular y pasados los cuales se repite el estímulo intravenoso, la respuesta aparece casi sistemáticamente (PALACIOS, 1975).

B-3 - PRUEBA DEL CLOMIFENO

Esta sustancia (triariletileno) esta emparentado con un estrógeno no esteroideo que es el clorotrianiseno. Se empezó a emplear a principios de la década de los sesenta como inductor de la ovulación en las hembras.

No se conoce exactamente el nivel del mecanismo de acción del clomifeno, aunque su administración da lugar a una elevación de los niveles de FSH y LH. Se piensa que actuaría a nivel de los receptores esteroideos del hipotálamo (BARDIN, ROSS y LIPSETT, 1967) bloqueando el control retrogrado de la testosterona. Cuando el clomifeno esta unido a los receptores, la testosterona no es capaz de ejercer el "feedback" negativo sobre la LH y la FSH, produciendose una elevación de los niveles de ambas gonadotropinas.

Por tanto la unión del clomifeno a los receptores hipotalámicos se realiza mediante un efecto competitivo, ya que las acciones pueden evitarse administrando estrogenos al mismo tiempo. Una vez que el clomifeno se "adueña" del receptor, entonces los estrógenos son incapaces de evitar el aumento de las gonadotropinas.

Tiene una acción prolongada, ya que la FSH y la LH permanecen elevadas durante seis-siete días después de la suspensión del fármaco. Esta es una acción antiestrogénica, aunque en otras ocasiones puede comportarse como un estrógeno debil.

Hay muchas formas de realizar esta prueba, aunque consideramos la más util se especifica a continuación:

Administrar entre 100-200 mg por vía oral (3mg/kg de peso) repartidos en 2-3 tomas y administrados durante 10 días. Se extrae sangre para testosterona, FSH y LH en condiciones basales

y los días 9 y 10.

La cuantía de la respuesta es variable, aunque en general podemos decir que, en el varón, la LH sube al doble de la basal y la FSH y la testosterona alrededor del 50%.

MIECHI y cols (1975) han descrito un test rápido administrando 5 ó 10 mg. de citrato de clomifeno, disuelto en 2 c.c. de suero fisiológico, por vía intramuscular, encontrando una elevación de la LH a los 30 minutos y de la FSH y de la testosterona a los 60 minutos, retornando todas ellas a los valores normales a las tres horas.

Asociando la prueba oral del clomifeno con el test de Gn-RH, y con arreglo a las respuestas obtenidas y siguiendo a LUNENFELD y GLEZERMAN (1975) podemos encontrar tres tipos:

- * Gn RH - Clomifeno - = Fallo hipofisario.
- * Gn RH + Clomifeno - = Alteración de la síntesis de Gn RH.
- * Gn RH + Clomifeno + = Alteración de la liberación de Gn RH.

VIII- FISIOPATOLOGIA

Hipogonadismo masculino es un termino frecuentemente - usado para describir desordenes de la función testicular, asociados con inadecuada producción de esperma, disminución de la secreción androgénica o ambos. Sin embargo, siempre que se llegue a este diagnostico es fundamental localizar el lugar de la lesión ya que esta puede estar en el propio testículo, o ser secundaria a un proceso hipofisario, hipotalámico o suprahipotalámica; o bien estando integros los tejidos anteriormente mencionados, pueden fracasar los tejidos efectores, (receptores), o producirse una gametogénesis inadecuada.

Vamos a revisar brevemente las alteraciones del eje hipotálamo-hipofiso-testicular haciendo una clasificación fisiopatológica de estos trastornos. Asi podemos encontrar desordenes testiculares con gonadotropinas elevadas y asociadas a gonadotropinas disminuidas. En otras ocasiones puede haber trastornos testiculares con gonadotropinas normales, aunque esto es mucho más infrecuente.

CON GONADOTROPINAS ELEVADAS

A. FRACASO TESTICULAR PRIMARIO

a) CON AFECTACION GLOBAL

Dejando a parte los raros casos de "agonadismo" descrito por OVERLIER y LINDEN (1956) y de los cuadros de agenesia gonadal (cuadros que cursan con fenotipo femenino, ausencia total de gonadas y con conductos genitales internos derivados del conducto

de Muller (quiza por ausencia del factor inhibidor Mulleriano), por su infrecuencia, vamos a referirnos a los tipos más frecuentes que son la anorquia y la castración.

La anorquia es una situación en la cual el desarrollo masculino de los genitales internos y externos hace suponer la existencia de un testículo durante la vida fetal. La castración es la pérdida de testículos tras el nacimiento y suele ser debido a múltiples etiologías, que comprenden desde los traumatismos hasta los tumores.

En estos casos quedan las funciones endocrina y reproductiva anuladas, y la falta de producción de andrógenos y espermatozoides dará lugar a infertilidad. Al no existir hormonas masculinas se atrofiarán progresivamente las estructuras del tracto genital y los caracteres sexuales secundarios. Habrá también elevación de gonadotropinas, por no existir freno en el sistema de retroalimentación negativo sobre hipotálamo e hipófisis, y alteración de la conducta masculina por la falta de actuación de los andrógenos sobre el sistema nervioso central.

b) AFECTACION DE LA FUNCION ENDOCRINA

En algunas formas de hiperplasia suprarrenal congénita, el bloqueo enzimático de la esteroidogénesis puede afectar, disminuyéndola, la biosíntesis de andrógenos suprarrenales. En estos casos se ha podido comprobar como el déficit enzimático existe también en el testículo, fracasando también, por tanto, la síntesis de andrógenos por él, en mayor o menor grado, dependiendo de la intensidad del fracaso enzimático.

Esta alteración bioquímica, determinada genéticamente al desarrollarse durante la vida fetal, va condicionar el que al llegar el momento de la diferenciación del seno urogenital, que

se produce hacia la 8ª semana de vida fetal, si recae sobre un feto varón, la falta de estímulo androgénico necesario para la diferenciación del seno urogenital en sentido masculino fracasa, al menos parcialmente, dando lugar al desarrollo de unos genitales externos más o menos feminizados.

Los defectos enzimáticos encontrados son los siguientes:

b-1) Deficit de 20- α -HIDROXILASA

Descrito por PRADER y GURTNER en 1955. Este enzima actúa en el primer paso de la esteroidogénesis, catalizando el paso de colesterol a 20-alfa-hidroxicolesterol, que es un paso esencial en la formación de las hormonas adrenales y gonadales.

Los testículos de estos pacientes presentan un aspecto macroscópico normal, habiéndose descrito en ellos un depósito de lípidos similar al observado en estos casos en las suprarrenales y que hace que esta alteración haya sido denominada "hiperplasia suprarrenal congénita lipoidea".

b-2) Deficit de 3-Beta-HIDROXISTEROIDE DESHIDROGENASA

Este deficit enzimático descrito por BONGIOVANNI en 1964, da lugar a un bloqueo en el paso de pregnenolona a progesterona y el de la 17-OH-pregnenolona a 17-OH-progesterona, y de dehidroepiandrosterona a androstenediona.

El feto varón desarrolla una insuficiencia suprarrenal con genitales externos más o menos feminizados, dado que los andrógenos que se producen en este deficit son poco activos, dado

que derivan a la formación de dehidroepiandrosterona. En general suelen morir en los primeros años de vida.

b-3) Deficit de 17-alfa-HIDROXILASA

En 1966 BIGLIERI describió por primera vez la situación clínica condicionada por este deficit enzimático, en el cual se bloquea el paso de pregnenolona a 17- α -OH-pregnenolona y de progesterona a 17- α -OH-progesterona.

Es un raro trastorno que se descubrió en principio en mujeres, y no fue hasta 1970 en que NEW observó el primer caso en un varón. En los muchachos la enfermedad se caracteriza por un pseudohermafroditismo con genitales externos ambiguos y posteriormente al llegar a la pubertad se comprueba ausencia de desarrollo sexual secundario y ginecomastia.

Bioquímicamente la secreción de aldosterona, cortisol, andrógenos y estrógenos está intensamente disminuida, mientras que la producción de corticosterona, deoxicorticosterona, pregnenolona y progesterona están aumentadas. Por el defecto de 17- α -hidroxilasa no se explican las cifras bajas de aldosterona, por lo que es posible exista asociado un defecto de 18-hidroxilasa.

b-4) Deficit de 17-Beta-OH-CETOSTEROIDE REDUCTASA

Descrito por SAEZ en 1971. Este defecto se debe a un bloqueo parcial en el paso de los 17-KS a 17-beta-OH-esteroides, (paso de DHEA a Δ^5 Androstenediol; de Δ^4 Androstenediona a testosterona y de estrona a estradiol.

Este síndrome fue antiguamente denominado como síndrome

de GILBERT-DREYFUS (1957) y como síndrome de LUBS (1959), que eran considerados como dos variantes de una misma entidad clínica. Se debe a SAEZ el conocimiento de su etiopatogenia, observando el déficit de 17-beta-OH-cetosteroido reductasa. Al nacer son considerados como hombres, ya que sus genitales externos son ambiguos, pero presentan testículos alojados en el canal inguinal o en los labios mayores y que dan lugar en el momento de la pubertad a virilización.

b-5) Deficit de 17-20 DFMOLASA

Observado por ZACHAMANN en 1972. Esta enzima es la encargada del paso de 17-alfa-OH-pregnenolona a DHFA y el paso de 17-alfa-OH-progesterona a Δ^4 -androstenediona. Cursa con ambigüedad sexual de los genitales externos, con un severo hipospadias, desarrollo de una uretra masculina y genitales internos masculinos. Los testículos están situados en el canal inguinal o intraabdominalmente.

b-6) Deficit de 5-alfa-REDUCTASA

Este defecto enzimático fue descrito en una serie de familias de la República Dominicana, en las cuales los varones al nacer presentaban ambigüedad sexual en grados variables como falo clitoriforme, escroto bifido y seno urogenital y los testículos se encontraban tanto en los conductos inguinales como en los pliegues labioescrotales.

Los conductos de Wolff estaban normalmente desarrollados y no existían estructuras derivadas de los conductos de Müller.

IMPERATO MAC GINLEY y GAUTIER (1976) pensaron que estos pacientes presentaban un modelo clínico ideal para diferenciar las acciones de la testosterona y de la dehidrotestosterona, ya que hay un déficit de 5-alfa-reductasa, y esta enzima transforma la testosterona en DHT, que es fundamental para lograr el efecto biológico.

Hay otras formas clínicas atenuadas del déficit de 5-alfa-reductasa, como son los casos descritos por OPITZ en 1972. Se trataban de individuos con ambigüedad sexual, con normal diferenciación testicular y genitales internos masculinos, no existiendo derivados Mullerianos. Son los casos que se conocen con el nombre de Hipospadias pseudo-vaginal perineo-escrotal.

c) CON INSUFICIENCIA TUBULAR

Dentro de este apartado se clasifican una serie de cuadros clínicos que tienen el denominador común de la afectación del epitelio germinal, por lo cual cursan con esterilidad, pudiendo encontrar además grados variables de afectación de la función endocrina.

Existirán por tanto alteraciones importantes en el espermiograma, con tasas elevadas de FSH y cifras variables de LH, según la mayor o menor afectación de las células de Leydig.

c-1) SERTOLI-ONLY

Este síndrome está caracterizado por azoospermia y elevación de la FSH, con normal función androgénica de los testículos. No hay asociadas anomalías congénitas y el cariotipo es normal.

Los testes suelen ser de tamaño normal o algo más pequeños, pero los túbulos seminíferos solo contienen células de Sertoli, no existiendo fibrosis peritubular o hialinización. Se supone que la etiología es debida a una ausencia congénita de células germinales (NELSON y HELLER, 1951).

No existe en la actualidad terapéutica capaz de corregir este estado espermático.

c-2) Síndrome de KLINEFELTER

En 1942 KLINEFELTER, REINFESTEIN y ALBRIGHT, describieron este síndrome caracterizado por ginecomastia, eunocoidismo, azoospermia, hialización de los túbulos seminíferos y que cursaba con niveles altos de gonadotropinas y bajos de 17-cetosteroides. Esta descripción original no era completa y en la actualidad se han añadido otros síntomas y se ha clarificado su etiopatogenia.

Así: *

- La ginecomastia a veces no es constante y además se ha observado la presencia de vello de distribución femenino y escaso desarrollo de la barba.

- Se ha visto que no es raro que se asocie a varios trastornos sistémicos, como diabetes mellitus y trastornos mentales.

- Su etiopatogenia es de naturaleza congénita. El análisis cromosómico de las células somáticas revela un cariotipo 47-XXY, así como otras combinaciones del tipo de deleciones y mosaicismos.

El diagnóstico se realiza además de por el estudio cromosómico que es imprescindible, en base a la evaluación clínica,

los niveles elevados de gonadotropinas y la biopsia testicular, en la cual se comprueba la hialinización del epitelio germinal y la aglutinación edematosa de las células de Leydig.

No hay terapia posible para la esterilidad, aunque la deficiencia androgénica puede ser sustituida por la testosterona exógena.

c-3) Síndrome de ULLRICH-TURNER (TURNER del varón)

Este es un raro cuadro clínico caracterizado por corta estatura, pterigiun colli, torax en escudo, anomalías cardiovasculares y oculares, cúbito valgo, criptorquidia y signos de función androgénica disminuida.

Algunos enfermos presentan cariotipo hormonal, mientras que otros exhiben diferentes grados de anomalías cromosómicas (CHAVES-CARBALLO y HAYLES, 1966). Los testículos presentan diferentes grados de alteración, que oscilan desde una mínima deficiencia espermática hasta una completa fibrosis.

En ocasiones otros enfermos exhiben ginecomastia, lífe dema, y retraso mental.

La etiología es desconocida y el tratamiento estriba en la corrección del estado hipoandrogénico.

c-4) Síndrome de REINFESTEIN

El fenotipo de estos enfermos recuerda el síndrome de Klinefelter: aspecto eunucoide, testículos pequeños, azoospermia y ginecomastia, aunque en este caso se asocia un síntoma que le

confiere especificidad, que es la existencia de hipospadias.

El cariotipo es normal y los factores etiopatogénicos son desconocidos.

c-5) Insuficiencia tubular del adulto

También se puede afectar el epitelio germinal del adulto, lo que trae como consecuencia una elevación de la FSH en virtud a múltiples etiologías como son agentes físicos, radiaciones ionizantes, que incluyen los rayos X y el cobalto. Estudios microscópicos sugieren que mientras las células de Leydig y las de Sertoli son relativamente radorresistentes, las del epitelio germinal son muy sensibles.

El calor también puede alterar el epitelio germinal como es sabido en los testículos criptorquídicos alojados en el interior del abdomen.

Dentro de los agentes químicos son conocidos numerosas sustancias que pueden alterar las células germinales como agentes alquilantes, sustancias citotóxicas, drogas antitumorales, pesticidas, fungicidas, antibióticos y narcóticos.

Las alteraciones vasculares tienen gran trascendencia en la fertilidad, dado que por su frecuencia las interferencias en la vascularización y el varicocele son causas muy frecuentes de la esterilidad de varones.

Las infecciones, como la orquitis producen daño testicular. Dentro de ellas las más frecuentes son la tuberculosa, paratuberculosa y brucelosa, en este orden de frecuencia.

Enfermedades neurológicas, como las lesiones de la médula

la se asocian con disfunción testicular. La distrofia miotónica es una curiosa enfermedad en la que dentro de su cortejo sintomático está afectado el epitelio germinal y por tanto comprometida la fertilidad.

CON GONADOTROPINAS DISMINUIDAS

Cuando existe disfunción testicular asociada con niveles bajos o indetectables de gonadotropinas, desde siempre se pensó que era debido a un fallo hipofisario. Con el conocimiento de la fisiología de las hormonas hipotalámicas, y en este caso concreto del LHRH y su introducción en la clínica se ha comprobado que también el hipotálamo o estructuras más altas, pueden estar involucrados en estos trastornos.

Así si la hipófisis no responde a la administración de LHRH exógeno, en principio hay que considerar que esta glándula está alterada y por lo tanto el trastorno es hipofisario, y si la respuesta es adecuada, hay que pensar que la glándula está indemne y que le falta la hormona hipotalámica, siendo por tanto el diencefalo el responsable del desorden. La patología va a variar fundamentalmente dependiendo de la edad de aparición según sea pre o postpubertal y de la severidad del daño según sea selectivo, parcial o completo.

Así vamos a clasificar estos trastornos de la siguiente manera, siguiendo a STEINBERGER:

1.* FALLO SELECTIVO COMPLETO PREPUBERAL

Se conoce con el nombre de eunucoidismo hipogonadotrópico y es debido al fallo en la secreción apropiada de gonadotropinas

en la prepubertad, pubertad y en la edad adulta. Sin embargo sería deseable diagnosticar este trastorno antes del comienzo de la pubertad, en razón a instaurar un tratamiento en la edad adecuada, lo cual no ha sido posible hasta hace pocos años, ya que las técnicas de laboratorio no están suficientemente sensibles para medir las gonadotropinas en período prepuberal. El desarrollo de la técnica del radioinmunoanálisis hizo posible su medida y el descubrimiento de las oscilaciones nocturnas en el inicio de la elevación de las gonadotropinas conforme se acerca la pubertad.

Pero a veces esto no es concluyente y hay que utilizar los test de estimulación con clomifeno o con LHRH, como se describen en otro apartado.

En los enfermos con alteraciones hipogonadotrópicas, las características clínicas del eunucoidismo, como el aspecto somático, voz atiplada, testículos pequeños, ausencia de vello pubiano y disminución del vello, no son manifiestos hasta la pubertad. La confirmación de la impresión clínica se debe realizar con los estudios apropiados de laboratorio, que incluyen la medición de las gonadotropinas, determinación de andrógenos y los tests de estimulación con clomifeno, LHRH y HCG, complementados a veces con la biopsia testicular.

La etiología de este hipogonadismo es oscura. NOWAKOWSKI y LENZ (1961) han sugerido que sea debido a un mecanismo hereditario, ligado al sexo, mientras que EWER (1968), considera que es una alteración autosómica recesiva. Recientemente SANTEN y PAULSEN (1973) creen que es un desorden autosómico dominante.

Numerosos trabajos en la literatura han demostrado la asociación de eunucoidismo hipogonadotrópico con otras anomalías como retraso mental, ceguera, sindactilia, sordera, ataxia cerebelosa, ictiosis, paladar endido, criptorquidia unilateral y anosmia.

La asociación entre hipogonadismo y anosmia fue descrito por KALLMAN en 1944, y así se conoce este síndrome en la literatura inglesa, pero es de justicia hacer constar que en 1849 Aureliano MAESTRE de SAN JUAN, profesor de la Facultad de Medicina de Madrid publicó un caso sobre el que insistió en 1856 en el Siglo Médico, describiendo un individuo con falta total de los nervios olfatorios con anosmia asociado a una atrofia congénita de los testículos y del pene. Es decir, que este síndrome fue descrito 95 años antes por este sagaz clínico español.

Este trastorno no es debido a enfermedad hipofisaria, sino que parece estar en relación con una detención del crecimiento del SNC en la sexta semana de la vida, durante la cual se desarrolla el bulbo olfatorio, con alteración simultánea del parenquima nervioso (hipotálamo) y del mesenquima facial (asimetría, alteraciones del paladar, etc).

Desde el punto de vista hormonal encontraremos cifras bajas de testosterona, con gonadotropinas bajas, aunque no nulas, que no se elevan tras el clomifeno, ya que este parece actuar a nivel hipotalámico produciendo la suelta de Gn-RH, y el eje debe estar íntegro para que halla respuesta. Respecto al estímulo con Gn-RH hay respuestas variadas, aunque la no responsividad que algunos han observado es al estímulo agudo, y si se inyecta Gn-RH subcutáneo durante cuatro-seis días y se repite el estímulo intravenoso la respuesta se produce casi sistemáticamente (PALACIOS, 1975).

2.* FALLO SELECTIVO PARCIAL PREPUBERAL

Es una alteración mucho más frecuente que la descrita anteriormente y debe ser diferenciada de la pubertad retrasada la cual puede presentar idénticos signos y síntomas.

Las gonadotropinas son indetectables o muy bajas, así como la testosterona.

3.* FALLO SELECTIVO POSTPUBERAL

Esta es una rara alteración de etiología desconocida. Los enfermos empiezan a notar pérdida de la libido y de la potencia sexual, disminución del crecimiento de la barba y caída del vello corporal. Las gonadotropinas y testosterona están disminuidas. No presentan rasgos eunucoideos, ya que el cuadro se produce una vez pasada la pubertad.

4.* PANHIPOPITUITARISMO PREPUBERAL

El aspecto más importante es la detención del crecimiento, por afectación de GH, aunque además se asocian deficiencia en la producción de ACTH, TSH y por supuesto de gonadotropinas.

Durante el estado prepuberal, el diagnóstico desde el punto de vista de las gonadotropinas es difícil de establecer, ya que es muy difícil medir los bajos niveles de estas hormonas en el niño. Conforme se acerca la pubertad, el deficiente desarrollo sexual se hace cada vez más evidente. Así se encuentran escasos cambios en el desarrollo óseo, apareciendo una osamenta eunucoide, característica del bajo nivel de andrógenos.

El papel de la GH en la expresión del efecto de la LH en los testículos no está claro. Se ha sugerido, en ratas, que la presencia de la hormona del crecimiento puede mejorar la respuesta del desarrollo de los testículos a la LH (LOSTRON, 1976). Además se ha comunicado que los enfermos con deficiencia aislada de GH y gonadotropinas y función sexual aparentemente normales, pue-

den exhibir inadecuado desarrollo del pene. Estos hallazgos han sido interpretados como que la hormona del crecimiento es esencial para que la LH dé lugar a la normal producción de andrógenos y al desarrollo testicular.

El tratamiento debe ser similar al descrito para el hipogonadismo hipogonadotrópico.

5.* PANHIPOFITUITARISMO POSTPUBERAL

Aquí existe gran variabilidad en el grado de hipogonadismo, y depende de la cuantía del descenso de las gonadotropinas.

La etiología de este proceso puede presentarse espontáneamente, generalmente secundaria al tumor hipofisario o después de intervención quirúrgica en relación con una hipofisectomía.

Los cambios gonadales son debidos a la disminución de los niveles circulantes de las gonadotropinas y las manifestaciones somáticas son la expresión de la hipoandrogenicidad.

Los síntomas más comunes son disminución de la potencia sexual y de la libido, retraso de los caracteres sexuales secundarios (barba, vello corporal) y debilidad muscular. En los casos tumorales esto ocurre lentamente, mientras que esto es brusco en los casos de hipofisectomía.

En el testículo ocurre en cambios y en los túbulos no hay una regresión al estado puberal, pero si existen degeneración y desorganización del epitelio seminífero, con fibrosis e hialización. Las células de Leydig se atrofian.

6.* HIPERPROLACTINEMIA

La hiperprolactinemia en el varón puede ser de origen tumoral, (prolactinomas) o medicamentoso (fenotíácidas, sulpiride, antidepresivos tricíclicos, alfa-metildopa, reserpina, etc) o más raramente debido a secreción ectópica de prolactina por tumores no endocrinos.

La relación causal entre hiperprolactinemia e hipogonadismo no está del todo esclarecida. Hay una serie de hipótesis que intentan explicarlas. Así:

- Estados patológicos, tales como la sección funcional del tallo hipofisario, provocan a la vez una disminución de la secreción de gonadotropinas, una disminución del PIF y por tanto habría hiperprolactinemia.
- La prolactina interfiere de alguna manera el control normal de la secreción de gonadotropinas.
- La prolactina ejerce un efecto directo sobre la función testicular.

Sea como fuere en estos fracasos testiculares de origen secundario vamos a encontrar la testosterona normal o disminuida, así como las gonadotropinas, FSH y LH. Existirá una falta de respuesta al LHPH, lo que nos traducirá la afectación de la hipófisis.

7.* DEFICIENCIA AISLADA DE UNA GONADOTROPINA

La ausencia aislada de FSH no ha sido descrita todavía de forma convincente.

La falta de LH con FSH intacta fue descrita por PASQUALINI en 1950 y estudiada más tarde por McCULLAGH (1953).

Describieron un enfermo con fenotipo eunucoide, con testículos normales y espermatogénesis. Se le dio el nombre de "eunucos fértiles", que expresa muy bien su síndrome. La FSH se encuentra en el rango normal, mientras que la LH es indetectable, y los niveles de testosterona están normalmente disminuidos. Hay diferentes grados de variación en el espermiograma que varían entre la azoospermia y cifras de espermios algo más bajas que la del varón normal. La biopsia testicular confirma la existencia de espermatogénesis.

La fisiopatología es oscura y se ha especulado con la existencia de un factor en relación con la deficiente función testicular. Sin embargo en vista de la presencia de espermatogénesis es difícil de aceptar la posibilidad de que la producción de testosterona esté completamente abolida. Por ello se piensa que una FSH normal y una LH deficiente - aunque no totalmente ausente - sean las responsables de la producción de testosterona por los testículos en cantidades suficientes para mantener un cierto grado de actividad espermatogénica. Desgraciadamente aún no disponemos de estudios sobre niveles intratesticulares de testosterona que podrían aclararnos esta cuestión.

8.* SÍNDROME DE PRADER-LABHART-WILLI

Este síndrome está caracterizado por hipotonía, hipomenia, hipogonadismo y obesidad (también denominado síndrome HHHO). Se asocia además con criptorquidia y tolerancia hidrocarbonada anómala. La descripción original de esta enfermedad fue realizada en 1956 por PRADER, LABHART y WILLI. Aparece en la infancia y los pacientes exhiben una hiperfagia incontrolable junto a algunas alteraciones de la regulación de la temperatura corporal.

9.* SINDROME DE LAWRENCE-MOON-BARDFT-BIELD-ROZABAL

El cuadro clínico se caracteriza por obesidad, retinitis pigmentaria, poli o sindactilia, diabetes, disostosis cleidocraneal, oligofrenia e hipogonadismo. Es un proceso hereditario con caracter autosómico recesivo. Hay poca información sobre la existencia del síndrome, aunque se ha observado la existencia de consanguinidad en un 25% de los casos.

El hipogonadismo no está bien aclarado, ya que aunque en ocasiones hay el patrón de un hipogonadismo hipogonadotrópico, en otras hay evidencia de lesión primariamente testicular.

10.* SINDROME DE ALSTROM

Se parece en muchos aspectos al síndrome anterior. Es un cuadro de desorden hereditario autosómico asociado con retinitis pigmentaria, obesidad, sordera de percepción, nefropatía e hipogonadismo.

Difiere del síndrome de LAWRENCE-MOON-BIELD en que no hay trastorno de tipo mental (oligofrenia) ni polidactilia, pero incluyendo una variedad de desordenes metabólicos como hipertrigliceridemia, hiperuricemia y acantosis nigricans.

11.* SINDROME DE WERNER

Cursa con estatura baja, calvicie prematura y el cabello se torna gris; suele haber cataratas y atrofia de los músculos y del tejido subcutáneo, diabetes mellitus, y calcificaciones metastásicas, así como hipogonadismo cuya fisiopatología aún no

ha sido establecida.

Es un trastorno autosómico recesivo que conduce a la muerte en edad temprana.

12.* TRASTORNOS ANDROGENICOS DE LAS SUPRARRENALES

Estos síndromes son debidos no a hipofunción hipofisaria, sino a una hiperfunción suprarrenal, y es incluido en este grupo dado que la disminución de la función testicular está en relación con niveles bajos de gonadotropinas.

Estas tasas disminuidas de las gonadotropinas resultan de la supresión a nivel hipofisario de la función gonadotrópica por los andrógenos producidos en las suprarrenales.

Las causas de la hiperfunción androgénica son de naturaleza congénita o adquirida y menos frecuentemente por tumores suprarrenales.

Los tipos de hiperplasia adrenal congénita son: la deficiencia parcial de 21-hidroxilasa, el déficit total de 21-hidroxilasa y el déficit de 11-hidroxilasa. Estos tres tipos están asociados a hipogonadismo hipogonadotrópico. El déficit de 3- β -hidroxiesteroide-dehidrogenasa y el déficit del enzima que escinde la cadena lateral del colesterol, dan lugar a un hipogonadismo primario, como resultado de la incapacidad de las células de Leydig para producir andrógenos, ya que la deficiencia enzimática es similar a la que existe en las suprarrenales.

13.* CARCINOMA ADRENAL PRODUCTOR DE ESTROGENOS

El aumento de estrógenos producido por el tumor, trae como consecuencia una supresión de gonadotropinas con inhibición de la espermatogénesis y cese de la función secretora de las células de Leydig al faltarles el estímulo.

CON GONADOTROPINAS NORMALES

1) FALLO ADULTO DE LOS TUBULOS SEMINIFEROS

En una gran parte de las ocasiones las gonadotropinas se mantienen en un rango normal, salvo cuando el daño del epitelio de los túbulos seminíferos es muy severo, y en estos casos la FSH suele estar elevada.

2) OLIGOSPERMIA POST-ORQUITIS

Generalmente las infecciones testiculares, de las cuales las más frecuentes son la tuberculosa, parotidítica y brucelósica, traen como consecuencia un daño de los túbulos seminíferos y consiguiente oligospermia, que igual que en el caso anterior cursa con gonadotropinas normales, dado que la LH no se modifica porque la testosterona es normal, mientras que la FSH puede estar elevada en los casos de atrofia importante del epitelio germinal.

3) FALLO DE RECEPTORES (DEFICIT DE 5- α -REDUCTASA)

Se caracteriza el síndrome porque los receptores androgénicos celulares son incapaces de responder a la testosterona. Se ha sugerido que la insensibilidad de las células diana a la

testosterona es debida a una deficiencia de la 5- α -reductasa (IMPEPATO-McGINLEY, 1964) enzima que convierte la testosterona en dihidrotestosterona, que es la hormona activa a nivel del receptor.

Se piensa que el déficit radica en la incapacidad de los receptores para unir la testosterona o en otras palabras existe un receptor androgénico alterado.

Los pacientes afectados por este trastorno son generalmente varones (46 XY), pero tienen un fenotipo femenino. Tienen caracteres sexuales secundarios femeninos y los genitales externos son los de una hembra, con una vulva normal y una vagina que acaba en fondo de saco ciego. Tienen testículos, generalmente alojados en los labios mayores.

Los niveles de testosterona en la sangre están en el rango de un varón normal, y las gonadotropinas son normales.

Este es el cuadro del "testículo feminizante", término incorrecto descrito por MORRIS en 1953. Existen dos variantes: la forma completa, que es la descrita y una forma incompleta que se caracteriza por feminización insuficiente, hipertrofia de clitoris y fusión labio-escrotal.

En la actualidad se ha comprobado que el defecto a nivel del receptor puede ser cualitativo y cuantitativo.

105

B. PACIENTES, MATERIALES Y METODOS

VALORACION ESTADISTICA DE RESULTADOS

B - 1) SUJETOS EXPERIMENTALESCONTROLES

Se han utilizado como sujetos experimentales 19 varones sanos, voluntarios, sin alteraciones testiculares de ningún tipo, cuya exploración clínica y analítica rutinaria era rigurosamente normal. Exhibían caracteres sexuales secundarios normales y en 11 de ellos su fertilidad estaba comprobada (casados y con hijos). Sus edades oscilaban entre 22 y 40 años.

ENFERMOS

Se han estudiado 27 enfermos con diferente patología del eje hipotálamo-hipófiso-testicular. Se los dividió en tres grupos según tuvieran las gonadotrofinas elevadas, bajas o normales.

El primer grupo de gonadotrofinas altas (n=10) incluía alteraciones testiculares primarias, tales como atrofia global testicular, atrofia del epitelio germinal y anorquia, y algunos cromosomopatías con afectación testicular, como síndrome de Kline felter y síndrome XXYY.

El grupo segundo con gonadotrofinas bajas (n=12) estaba constituido por enfermos con panhipopituitarismo, hipogonadismos-hipogonadotróficos, síndrome de Maestre de San Juan y retrasos puberales.

El grupo con gonadotrofinas normales, incluía enfermos con impotencia sin alteraciones hormonales. Estos diagnósticos pueden ser observados en la tabla C-XV.

B - 2) DISEÑO EXPERIMENTAL**B - 2.1 PRUEBA DE ESTIMULACION EN NORMALES**

Tras extracción de muestras basales entre las 8,30 y 9,30 horas de la mañana, se administró gonadotrofina coriónica (HCG) de la casa FARMA LEPORI, existente en el mercado nacional (PROFASI) en diferentes pacientes. A saber:

a) Tras extracción de sangre en condiciones basales se administraron 5.000 U.I. diarias intramusculares a 6 voluntarios, durante 5 días (0, 1, 2, 3 y 4). En todos ellos se extrajeron muestras entre las 8,30 y 9,30 horas de la mañana, antes de la inyección de HCG para determinar testosterona (días 1, 2, 3, 4 y 5).

Además se recogió orina de 24 horas todos los días, para determinación de glucuronato de testosterona.

A éste grupo de voluntarios, al cabo de tres meses del experimento anterior, se les administraron por vía intramuscular 5.000 U.I. de HCG en días alternos (0, 2 y 4), extrayendo muestras de sangre entre las 8,30 y 9,30 horas de la mañana, los días (0, 1, 3 y 5) para determinación de testosterona en sangre y se recogió orina de 24 horas los días 0, 1, 3 y 5 para la determinación de glucuronato de testosterona.

b) A otro grupo de 6 voluntarios se les administró 2.500 U.I. diarias de HCG, por vía intramuscular, durante 5 días (0, 1, 2, 3 y 4).

Las muestras se tomaron entre las 8,30 y 9,30 horas, en condiciones basales y antes de la inyección intramuscular (días 0, 1, 2, 3, 4 y 5) para determinar testosterona en sangre.

Se recogió orina de 24 horas los días 0, 1, 2, 3 y 4, para la determinación de glucuronato de testosterona.

Después de tres meses de intervalo, se les volvió a administrar a este grupo de voluntarios 2.500 U.I. de HCG i.m. en días alternos (0, 2 y 4), realizando extracciones de sangre los días 0, 1, 3 y 5 para valoración de testosterona plasmática, y se recolectó orina de 24 horas para determinar glucuronato de testosterona los mismos días.

c) A un tercer grupo de voluntarios se les administraron 1.000 U.I. diarias de HCG intramuscular durante 5 días (0, 1, 2, 3 y 4) y les extrajeran muestras de sangre los días 0, 1, 2, 3, 4 y 5 para valoración de testosterona en sangre.

Asimismo se recogió orina de 24 horas los días 0, 1, 2, 3 y 4 para determinación de glucuronato de testosterona.

B - 2.2 CINETICA DE RESPUESTAS DE UNA INYECCION UNICA DE 2.500 U. I. DE HCG

A un grupo de siete voluntarios normales se les administraron 2.500 U.I. de HCG en una sola vez, y se hizo la valoración de la respuesta testicular determinando en sangre testosterona y 17-alfa-hidroxiprogesterona.

En una primera fase se hizo una cinética, que llamaremos CORTA, dado que tras la extracción de sangre en condiciones basales, se administraron en inyección única 2.500 U.I. de HCG, realizando determinaciones de T y de 17-OHP a las 3, 6, 9, 15, 24 y 30 horas.

Por considerarla insuficiente respecto al tiempo, se repitió la cinética con una inyección única de 2.500 U.I. intramusculares de HCG, pero haciendo la determinación de T a las 6,

12, 24, 30, 36, 48, 54, 60, 72, 78, 84, 96, 102, 108 y 114 horas y de 17-OHP a las 6, 12, 24, 30, 36, 48, 54, 60 y 72, en otro grupo de 7 sujetos normales de las mismas características.

B - 2.3 APLICACION CLINICA

A un grupo de 27 enfermos con distintas alteraciones del eje hipotálamo-hipófiso-testicular se realizó la valoración de la función testicular, administrando 2.500 U.I. de HCG intramuscular en inyección única y haciendo extracciones para determinar la testosterona en condiciones basales a los 3 y 5 días de su administración.

Se les dividió en 3 grupos según tuvieran las gonadotropinas altas, bajas o normales, según se menciona en B. (Ver resultados, tabla C-XVI).

B - 3) METODOS DE LABORATORIO

La sangre recogida en tubos heparinizados fue centrifugada inmediatamente y los plasmas congelados a -16° hasta el momento de su análisis.

La orina de 24 horas fue recogida y guardada en nevera hasta el momento de su determinación.

A continuación describiremos los métodos empleados en las valoraciones hormonales.

B - 3.1 GLUCURONATO DE TESTOSTERONA EN ORINA

Se realizó con la técnica de TRESGUERRES y cols. (1976). Consiste en un sencillo y rápido radioinmunoanálisis basado en la

obtención de anticuerpos específicos contra el glucuronato de testosterona.

La especificidad del antisuero es suficientemente alta (tiene una reacción cruzada con la testosterona libre del 27% y con el glucuronato de 5- α -dihidrotestosterona del 20%).

El glucuronato de testosterona se cuantifica directamente en pequeñas alícuotas de orina (solo se necesitan 10 microlitros).

El coeficiente de variación intraensayo es del 6% y el de interensayo del 11%. El coeficiente de correlación encontrado era de 0,89.

Los valores normales encontrados en el varón son de 164 ± 51 microgramos en 24 horas.

B - 3.2 TESTOSTERONA EN PLASMA

Se realizaron las determinaciones con el método de TRES GUERRES y cols. (1975). Es un también rápido radioinmunoanálisis para la determinación de la testosterona plasmática.

Se extraen 0,5 mililitros de plasma con 12 mililitros de éter etílico, tras la adición de una cantidad de trazador para calcular las pérdidas. El residuo seco se redissuelve en solución tampón y se procesa directamente.

Para el RIA se incubaba el extracto con el anticuerpo y la testosterona marcada durante 90 minutos a temperatura ambiente. La separación de la hormona libre y ligada al anticuerpo se consigue con carbón dextrano.

La curva de calibración tiene un rango utilizado entre

0,1 y 1,5 n. La reproducibilidad del método es buena con un coeficiente de variación entre ensayos del 7%.

Los valores normales encontrados oscilan entre 300 y 750 ng % ml. y son algo superiores a los de los métodos que utilizan purificación de extracto previas al RIA.

B - 3.3 17-OH-PROGESTERONA EN SANGRE

El antisuero utilizado se obtiene en conejos inmunizados con 17-OH-Progesterona-3-(0-carboximetil)-oxima-BSA. Fue obtenido comercialmente de Steranti.

Se utiliza un mililitro de suero o plasma de extracción se realiza con 8-10ml. de eter etílico. Se añaden aproximadamente 2.500 d.p.m. de 17-OH-Progesterona tritiada para control de las pérdidas durante el proceso de extracción y purificación.

Una vez evaporado el eter en residuo seco se disuelve en 0.1 ml. de una mezcla de bencenoetanol 95:5, que se aplica a una columna de Sephadex LH-20 de 6 x 0,5 centímetros. Se lava la columna con fracciones de 0.25 ml de la misma mezcla benceno-etanol y se recogen las fracciones 5, 6, 7 y 8, que son donde aparece el pico de la 17-OH-Progesterona.

Se evapora el solvente y se redisuelve en 0,5 ml de buffer-fosfato 0,005 M. y se pipetea en duplicado alicuotas de 100 microlitros para cuantificar en el RIA y 200 microlitros en un vial de centelleo para calculo de las pérdidas durante el proceso de extracción y purificación.

El coeficiente de variación intraensayo es del 6% e interensayo del 9,5%.



Los valores obtenidos en varones normales tienen un rango que oscilan entre 60 y 160 ng/100ml, con una media de 101 ± 32 ng/100ml.

B - 4) VALORACION ESTADISTICA DE LOS RESULTADOS

Se han utilizado la media aritmetica (\bar{X}) como parametro de centralización y la varianza, desviación standard y error standard de la media (S^2 , DS, SEM) como parametros de dispersión. Se han estimado los parametros de la población a partir de la muestra:

$$\bar{u} = \bar{X}$$

$$\sigma^2 = S^2 \frac{n}{n-1}$$

en donde \bar{u} y σ^2 , representan la media y la varianza de la población (estimada) a partir de la media y de la varianza de la muestra. n representa el número de elementos de la muestra.

La prueba estadística utilizada para comparación de dos muestras fue el test de Wilcoxon (prueba no paramétrica para muestras relacionadas).

Para realizar un ajuste en una población gaussiana fueron realizados estudios de regresión y correlación para dos variables.

B - 4.1 TEST DE WILCOXON

Lo hemos aplicado a muestras pequeñas relacionadas.

El test de rangos debido a Wilcoxon, estudia la diferencia entre dos muestras asociadas por pares, y tiene en cuenta no solo la diferencia de signo, sino también sus rangos. La realización de este test necesita el calculo de las diferencias observadas entre pares de individuos, la determinación del rango de estas diferencias, haciendo abstracción de sus signos y el calculo de la suma de los rangos de las diferencias negativas (Y_-). La suma total debe ser $Y_+ + Y_- = n(n+1) / 2$.

Si la hipótesis de identidad es verdadera, los valores obtenidos para cada suma deben fluctuar alrededor de $\frac{n(n+1)}{4}$.

El test tiene por principio verificar si el valor realmente observado no es estadísticamente diferente del valor esperado

REALIZACION PRACTICA:

- Se determina para cada sujeto la diferencia entre los dos grupos.
- Se ordenan estas diferencias en valor absoluto.
- Se asigna a cada diferencia un valor, de acuerdo con la ordenación; cuando existen diferencias iguales se promedian los valores correspondientes.
- Se añade a cada rango el signo + ó - de la diferencia que represente.
- Se determina T la suma de los rangos de igual signo menor.
- Se determina el número N de diferencias distintas de cero.
- Si $N < 25$, en el cuadro I se pueden observar los valores críticos de T para diferentes valores de N y un nivel de significación determinado.
- Si $N > 25$, la suma de los rangos T está prácticamente distribuida de forma normal, estudiándose la variable normal reducida.

$$T = \frac{T - n(n+1)/4}{\sqrt{\frac{n(n+1)(2n+1)}{24}}}$$

B - 4.2 REGRESION Y CORRELACION

El problema consiste en encontrar una relación funcional entre dos variables de tal forma que se obtenga una curva $i = t(x)$ llamada curva de regresión entre ambas y que nos permita obtener el valor de i para cada x conocido.

Según que la función $y = t(x)$ elegida sea o no una recta se le denomina "lineal" o "no lineal".

En definitiva se trata de ajustar por mínimos cuadrados una recta de ecuación $y = a + bx$; los valores de a y b se obtienen al resolver el sistema de ecuaciones "normales"

$$\sum_{i=1}^n (y_i - a - bx_i) = 0$$

$$\sum_{i=1}^n (y_i - a - bx_i) x_i = 0$$

El grado de bondad con que la curva de puntos se "ajusta" a la regresión, viene dada por la expresión:

$$s_{xy}^2 = s_y^2 (1 - r_{xy}^2)$$

que se denomina varianza residual, que puede tomar valores entre 0 y s_y^2 y cuanto menor sea, de nota que la recta de regresión es mas representativa. El valor r_{xy}^2 se denomina coeficiente de correlación de Pearson y su raíz cuadrada es el coeficiente de correla

ción lineal.

El valor r_{xy} es una medida del grado de interdependencia entre ambas variables. Su valor esta comprendido entre -1 y +1 y en el cuadro II se encuentra para los distintos grados de libertad (ν) la probabilidad de que el valor de r sea debido al azar.

CUADRO ESTADISTICO I : Valores críticos de T para diferentes valores de N. (Tomado de SYDNEY SIEGEL, "Estadística no paramétrica". Edit. Trillas Mexico, 1972).

APPENDIX 4
THE CORRELATION COEFFICIENT

Degrees of freedom	Value of P				
	0.10	0.05	0.02	0.01	0.001
1	0.9877	0.99692	0.99951	0.99983	0.9999988
2	0.9000	0.9500	0.9800	0.9900	0.9990
3	0.805	0.878	0.9343	0.9587	0.9911
4	0.729	0.811	0.882	0.9172	0.9741
5	0.669	0.754	0.833	0.875	0.9509
6	0.621	0.707	0.789	0.834	0.9249
7	0.582	0.666	0.750	0.798	0.898
8	0.549	0.632	0.715	0.765	0.872
9	0.521	0.602	0.685	0.735	0.847
10	0.497	0.576	0.658	0.708	0.823
11	0.476	0.553	0.634	0.684	0.801
12	0.457	0.532	0.612	0.661	0.780
13	0.441	0.514	0.592	0.641	0.760
14	0.426	0.497	0.574	0.623	0.742
15	0.412	0.482	0.558	0.606	0.725
16	0.400	0.468	0.543	0.590	0.708
17	0.389	0.456	0.529	0.575	0.693
18	0.378	0.444	0.516	0.561	0.679
19	0.369	0.433	0.503	0.549	0.665
20	0.360	0.423	0.492	0.537	0.652
25	0.323	0.381	0.445	0.487	0.597
30	0.296	0.349	0.409	0.449	0.554
35	0.275	0.325	0.381	0.418	0.519
40	0.257	0.304	0.358	0.393	0.490
45	0.243	0.288	0.338	0.372	0.465
50	0.231	0.273	0.322	0.354	0.443
60	0.211	0.250	0.295	0.325	0.408
70	0.195	0.232	0.274	0.302	0.380
80	0.183	0.217	0.257	0.283	0.357
90	0.173	0.205	0.242	0.267	0.338
100	0.164	0.195	0.230	0.254	0.321

CUADRO ESTADISTICO II : (Tomado de SIDNEY SIEGEL, "Estadística no paramétrica". Ed. Trillas, México, 1972).

Valores críticos de T en la prueba de los rangos señalados de pares igualados de Wilcoxon.

Tabla de valores críticos de T en la prueba de los rangos señalados de pares igualados de Wilcoxon*

N	Nivel de significación para prueba de una cola		
	.025	.01	.005
	Nivel de significación para prueba de dos colas		
	.05	.02	.01
6	0	—	—
7	2	0	—
8	4	2	0
9	6	3	2
10	8	5	3
11	11	7	5
12	14	10	7
13	17	13	10
14	21	16	13
15	25	20	16
16	30	24	20
17	35	28	23
18	40	33	28
19	46	38	32
20	52	43	38
21	59	49	43
22	66	56	49
23	73	62	55
24	81	69	61
25	89	77	68

C. RESULTADOS

C - 1 DETERMINACION DE TESTOSTERONA EN SANGRE Y GLUCURONATO DE TESTOSTERONA EN ORINA DE 24 HORAS, EN CONDICIONES BASALES Y TRAS ESTIMULACION CON 5.000 U.I. DIARIAS Y 5.000 U.I. ALTERNAS DE HCG EN VOLUNTARIOS NORMALES

En la tabla C-I se encuentran los valores basales de testosterona y de glucuronato de testosterona y los resultados obtenidos individualmente los días 1, 2, 3, 4 y 5, tras la administración intramuscular de 5.000 U.I. diarias de HCG.

En el caso de la testosterona plasmática (tabla C-II) se observa que tras una cifra basal media de 497 ± 68 ng/100ml (S.E.M.) se produce un ascenso gradual que comienza a ser estadísticamente significativo a las 48 horas (Fig. C-1) y que llega a ser máximo entre las 96 y 120 horas donde se logran unos incrementos del 179 y del 182% con respecto a la basal. El ascenso a las 48, 72, 96 y 120 horas es altamente significativo ($p < 0,025$) respecto a la cifra basal.

El glucuronato de testosterona, medido en orina de 24 horas se comporta de forma parecida, aunque la máxima respuesta se logra a las 72 horas. Tras una basal de 154 ± 22 microgramos en 24 horas (S.E.M.) el máximo incremento se observa el tercer día y es del 211%. El ascenso es altamente significativo desde las 24 horas y a las 48, 72, 96 y 120 horas con una $p < 0,025$ (Fig. C-2).

En la tabla C-III se encuentran los valores basales de testosterona y de glucuronato de testosterona a las 9 A.M. y el resultado de la estimulación en los días 0, 2 y 4 con 5.000 U.I. en inyecciones intramusculares de HCG.

La testosterona se eleva gradualmente, pero en menor cuantía que en el caso anterior, obteniendo la máxima respuesta a las 120 horas con un incremento máximo de 163% (tabla C-IV). Desde el punto de vista estadístico los valores a las 24 y 120 horas

son significativos con una $p < 0,025$, mientras el valor obtenido a las 72 horas no es significativo (Fig. C-3).

El glucuronato de testosterona sufre un mayor incremento con respecto a la basal, llegando a ser del 220% y con una $p < 0,025$ a las 72 y 120 horas (tabla C-IV).

En la Fig. C-4 se ve la representación grafica de estos resultados.

DETERMINACION DE TESTOSTERONA (SANGRE) Y DE GLUCURONATO DE
TESTOSTERONA (ORINA DE 24 HORAS) EN CONDICIONES BASALES Y TRAS
ESTIMULACION CON 5.000 U.I. DIARIAS DE H.C.G.

SUJETOS	DIAS	T (NG/100 ML.)	G.T. (µG/24 HORAS)
B.M.E.	B	765	126
	1	793	152
	2	846	208
	3	918	264
	4	800	300
	5	774	216
P.P.P.	B	591	226
	1	608	260
	2	936	336
	3	887	304
	4	832	327
	5	1220	303
V.S.G.	B	402	144
	1	813	314
	2	716	172
	3	715	235
	4	825	286
	5	648	177
J.J.A.	B	325	193
	1	500	519
	2	1000	380
	3	900	424
	4	750	280
	5	900	346
R.G.S.	B	535	71
	1	562	78
	2	758	47
	3	628	92
	4	782	182
	5	1017	204
A.C.G.	B	366	168
	1	340	192
	2	614	600
	3	970	640
	4	1358	292
	5	896	422

RESULTADOS

=====

5.000 U.I. DIARIAS

TESTOSTERONA	\bar{x}	S.E.M.
BASAL	497	68
DIA 1	602	72
DIA 2	811	55
DIA 3	836	55
DIA 4	891	94
DIA 5	909	80

GLUCORONATO TESTOSTERONA	\bar{x}	S.E.M.
BASAL	154	22
DIA 1	252	42
DIA 2	290	58
DIA 3	326	76
DIA 4	277	20
DIA 5	278	28

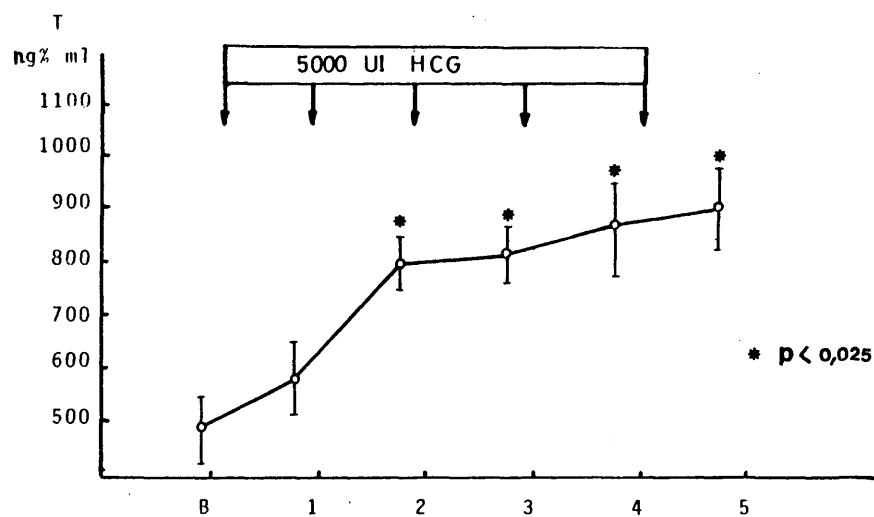


FIG. C - 1

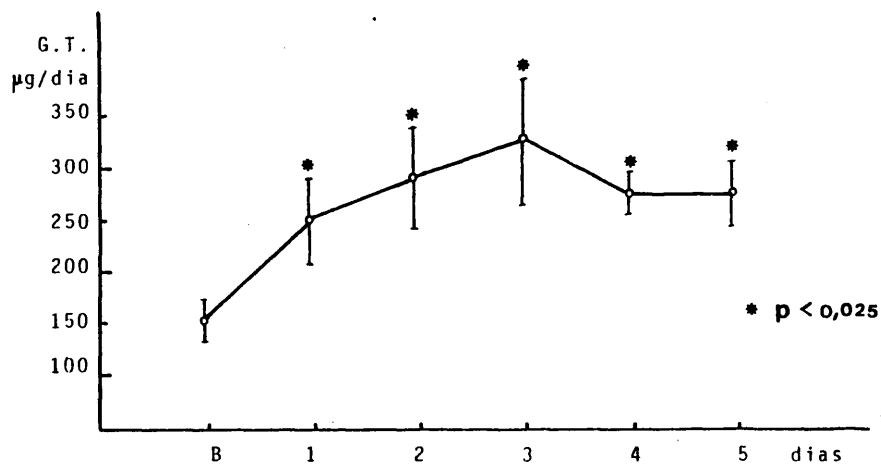


FIG. C - 2

DETERMINACION DE TESTOSTERONA (SANGRE) Y DE GLUCURONATO DE
TESTOSTERONA (ORINA DE 24 HORAS) EN CONDICIONES BASALES Y TRAS
ESTIMULACION CON 5.000 U.I. ALTERNAS DE H.C.G.

SUJETOS	DIAS	T (NG./100 ML.)	G.T. (µG/24 HORAS)
B.M.E.	B	833	122
	1	677	119
	3	714	171
	5	923	400
P.P.P.	B	552	180
	1	1026	176
	3	1052	220
	5	1256	320
V.S.G.	B	325	148
	1	700	198
	3	400	270
	5	550	144
J.J.A.	B	409	85
	1	666	220
	3	480	224
	5	600	280
R.G.S.	B	592	62
	1	592	144
	3	759	127
	5	615	176
A.C.G.	B	360	152
	1	650	150
	3	600	380
	5	1081	340

RESULTADOS

5.000 U.I. ALTERNAS

TESTOSTERONA	\bar{x}	S.E.M.
BASAL	511	77
DIA 1	718	63
DIA 3	667	94
DIA 5	837	99
GLUCURONATO TESTOSTERONA	\bar{x}	S.E.M.
BASAL	125	18
DIA 1	167	15
DIA 3	248	30
DIA 5	276	30

TABLA C - IV

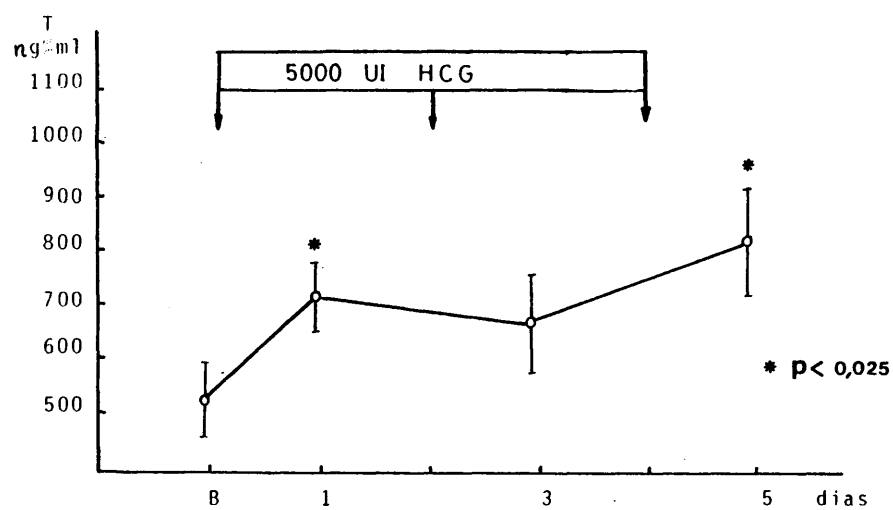


FIG. C - 3

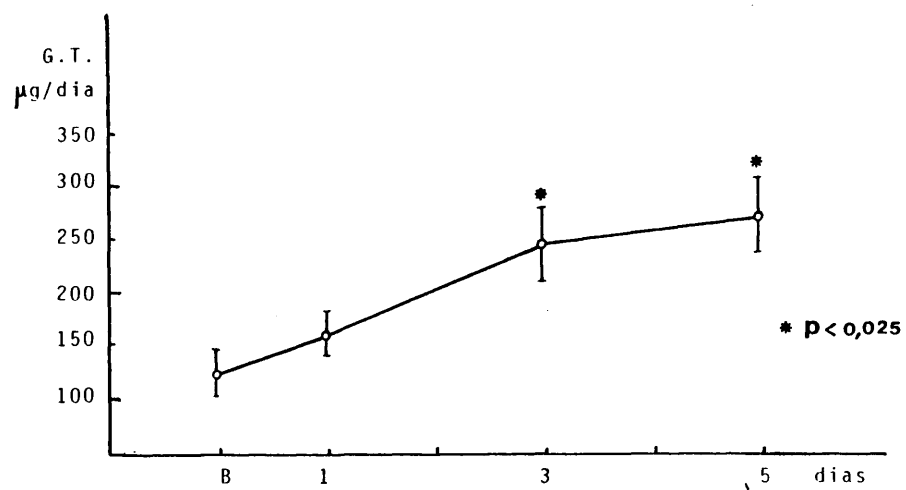


FIG. C - 4

C - 2 DETERMINACION DE TESTOSTERONA (SANGRE) Y DE GLUCURONATO DE TESTOSTERONA (ORINA DE 24 HORAS) EN CONDICIONES BASALES Y TRAS ESTIMULACION CON 2.500 U.I. DIARIAS Y 2.500 U.I. ALTERNAS DE HCG EN VOLUNTARIOS NORMALES

En la tabla C-V se observan los valores basales de testosterona individualmente y los resultados obtenidos en condiciones basales y tras la estimulación de 2.500 U.I. diarias en seis voluntarios normales.

La cifra media de testosterona en condiciones basales es de 512 ± 57 (tabla C-VI) ng/100ml (S.E.M.) y se eleva gradualmente obteniendo los mayores incrementos entre las 72 y 96 horas, que llegan a ser del 242 y del 223% con respecto a la basal. Es de señalar desde el punto de vista estadístico que las elevaciones a las 24, 48, 72, 96 y 120 horas son netamente significativos, con una $p < 0,025$ en todas ellas (Fig. C-5).

Comparando la diferencia en la respuesta entre estos casos y los tratados con 5.000 U.I. diarias, esta es mucho mas acusada con 2.500 U.I. diarias con una diferencia claramente significativa al tercer día ($p < 0,025$) lo sea entre las basales. Esto último indica que ambas poblaciones son homogéneas.

El glucuronato de testosterona no tiene una respuesta tan brillante en cuanto al estímulo y las máximas elevaciones se producen a las 48 y 96 horas con incrementos del 152 y del 151% respectivamente. La significación estadística es alta con una $p < 0,025$ desde el segundo al quinto día.

La representación gráfica de estos resultados se pueden observar en la Fig. C-6.

En la tabla C-VII se recogen las cifras basales de testosterona y glucuronato de testosterona a las 9 A.M. y las respuestas obtenidas individualmente tras la administración intramus

cular de 2.500 U.I. de HCG en días alternos. En la tabla C-VIII se comprueba que tras un valor medio basal de $513 \text{ ng/100ml} \pm 32$ (S.E.M.), la máxima respuesta se logra a las 72 horas tras una subida gradual, y el incremento llega a ser del 178%. El ascenso a las 24, 72 y 120 horas es altamente significativo con una $p < 0,025$ (Fig. C-7).

El glucuronato de testosterona tiene una respuesta muy pobre ya que partiendo de una media basal de 221 ± 21 microgramos en 24 horas y se eleva a 293 microgramos a las 72 horas (pico máximo) lo que representa un incremento del 132% (tabla C-VIII), lo cual no es significativo desde el punto de vista estadístico.

La representación gráfica se puede observar en la Fig. C-8.

DETERMINACION DE TESTOSTERONA (SANGRE) Y DE GLUCURONATO
DE TESTOSTERONA (ORINA DE 24 HORAS) EN CONDICIONES BASALES Y TRAS
ESTIMULACION CON 2.500 U.I. DIARIAS DE H.C.G.

SUJETOS	DIAS	T (NG/100 ML)	G.T. (µg/24 HORAS)
A.S.R.	B	666	140
	1	800	260
	2	1646	264
	3	2068	364
	4	1936	220
	5	1776	300
J.S.M.	B	376	300
	1	930	256
	2	1052	420
	3	1244	350
	4	608	432
	5	574	256
C.A.R.	B	704	170
	1	648	210
	2	624	230
	3	932	269
	4	952	280
	5	850	250
E.T.T.	B	492	280
	1	808	320
	2	860	420
	3	1378	356
	4	1362	330
	5	1276	300
C.C.B.	B	392	88
	1	500	96
	2	650	144
	3	808	147
	4	694	113
	5	624	176
A.CH.	B	444	182
	1	758	200
	2	820	264
	3	1012	280
	4	1290	304
	5	1036	225

RESULTADOS

2,500 U.I. DIARIAS.

TESTOSTERONA	\bar{x}	S.E.M.
BASAL	512	57
DIA 1	740	60
DIA 2	942	74
DIA 3	1240	95
DIA 4	1140	111
DIA 5	1022	100

GLUCURONATO TESTOSTERONA	\bar{x}	S.E.M.
BASAL	198	26
DIA 1	223	27
DIA 2	302	30
DIA 3	279	35
DIA 4	299	16
DIA 5	251	20

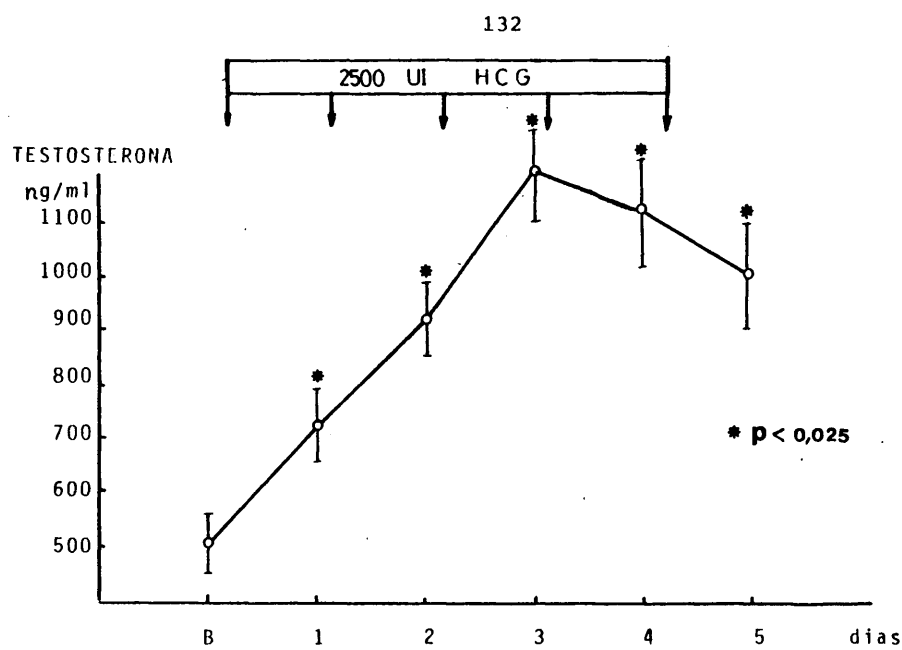


FIG C - 5

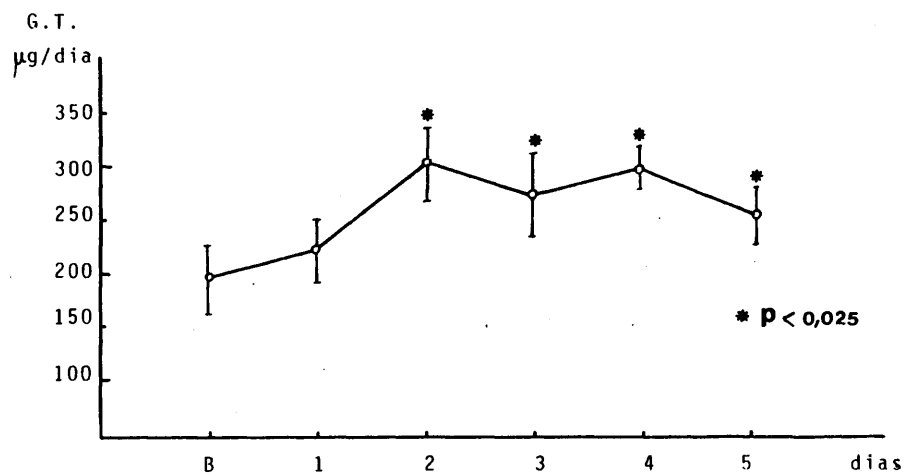


FIG. C - 6

DETERMINACION DE TESTOSTERONA (SANGRE) Y DE GLUCURONATO
DE TESTOSTERONA (ORINA DE 24 HORAS) EN CONDICIONES BASALES Y TRAS
ESTIMULACION CON 2.500 U.I. ALTERNAS DE H.C.G.

SUJETOS	DIAS	T (NG/100 ML)	G.T. (µg/24 HORAS)
A.S.R.	B	700	288
	1	1200	360
	3	1500	424
	5	900	249
J.S.M.	B	700	356
	1	800	460
	3	630	488
	5	675	287
C.A.R.	B	400	106
	1	800	128
	3	1300	133
	5	821	116
E.T.T.	B	552	324
	1	653	352
	3	779	448
	5	1009	230
C.C.B.	B	350	125
	1	406	190
	3	752	142
	5	700	145
A.CH.	B	380	168
	1	426	135
	3	756	115
	5	1038	180

RESULTADOS

2.500 U.I. ALTERNAS

TESTOSTERONA	\bar{x}	S.E.M.
BASAL	513	32
DIA 1	712	48
DIA 3	914	82
DIA 5	852	31
GLUCURONATO TESTOSTERONA	\bar{x}	S.E.M.
BASAL	221	24
DIA 1	287	34
DIA 3	293	44
DIA 5	197	19

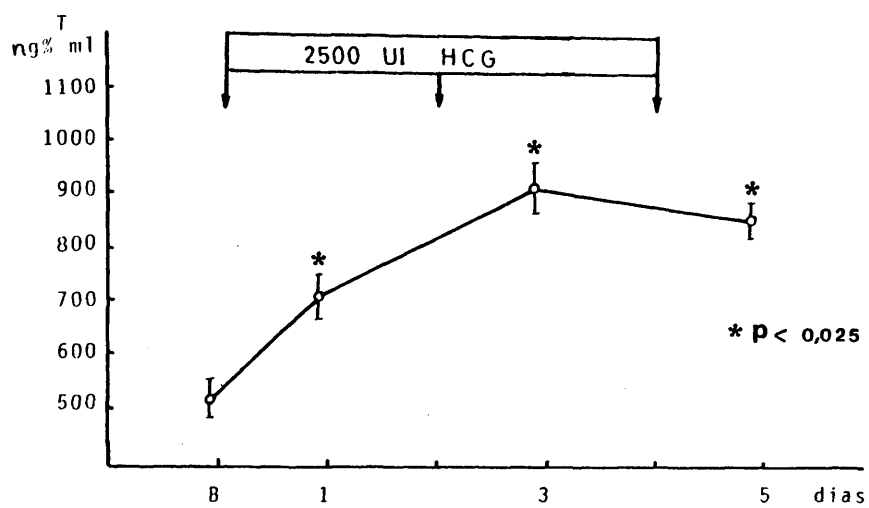


FIG. C - 7

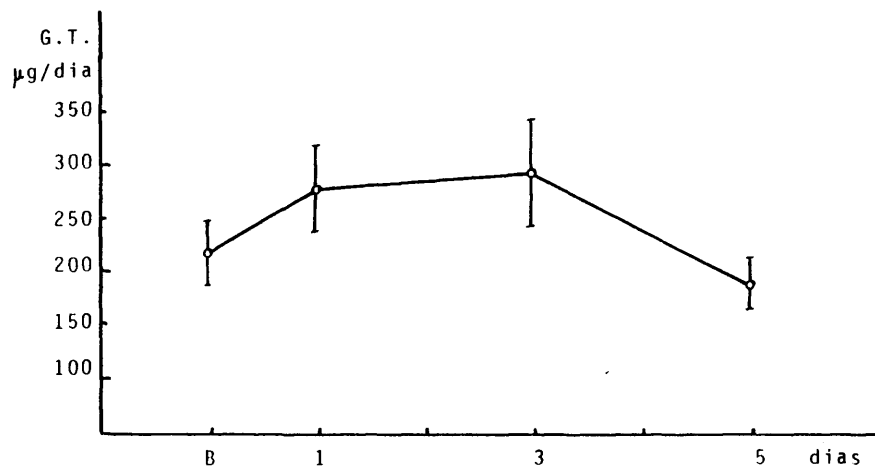


FIG. c - 8

C - 3 DETERMINACION DE TESTOSTERONA (SANGRE) Y DE GLUCURONATO DE TESTOSTERONA (ORINA DE 24 HORAS) EN CONDICIONES BASALES Y TRAS ESTIMULACION CON 1.000 U.I. POR VIA INTRAMUSCULAR EN VOLUNTARIOS NORMALES

En la tabla C-IX se recogen los valores basales de testosterona y de glucuronato de testosterona a las 9 horas A.M. y la respuesta tras la administración diarias de 1.000 U.I. intramusculares de HCG en seis varones normales.

Con respecto a la testosterona, tras una basal de 593 ± 31 (S.E.M.) ng/100ml, se obtiene un ascenso gradual (tabla C-X) que llega a un máximo a las 48 horas, presentando una meseta que llega hasta las 96 horas, para descender a las 120 horas. Los incrementos observados a las 48, 72 y 96 horas son del 173, 170 y 171%, y son altamente significativos con una $p < 0,025$ (Fig. C-9).

Esta es una respuesta intermedia entre el observado entre las 2.500 U.I. diarias y las 5.000 U.I. diarias.

El glucuronato de testosterona se comporta de manera similar, observándose la máxima respuesta al estímulo entre las 72 y 96 horas con unos incrementos del 200 y del 181%, aunque son altamente significativos todos los ascensos (24, 48, 72, 96 y 120 horas) a nivel estadístico con una $p < 0,025$ (Fig. C-10).

La cuantía de la respuesta es muy parecida a la encontrada con estímulos de 5.000 y 2.500 U.I. diarias, y algo inferior a observado con estas mismas dosis cuando se administran en inyección alterna.

DETERMINACION DE TESTOSTERONA (SANGRE) Y DE GLUCURONATO
DE TESTOSTERONA (ORINA/24 HORAS) EN CONDICIONES BASALES Y TRAS
ESTIMULACION CON 1.000 U.I. DIARIAS DE H.C.G.

SUJETOS	DIAS	T (NG/100 ML)	G.T. (µg/24 HORAS)
B.M.E.	B	577	114
	1	948	220
	2	806	209
	3	864	376
	4	821	297
	5	767	274
P.P.P.	B	731	181
	1	617	200
	2	1027	242
	3	849	400
	4	1080	340
	5	977	240
V.S.G.	B	390	130
	1	578	192
	2	938	209
	3	848	272
	4	597	329
	5	600	324
A.C.G.	B	569	312
	1	750	340
	2	1694	-
	3	1923	380
	4	1875	360
	5	1321	342
J.J.A.	B	808	180
	1	933	272
	2	723	325
	3	852	460
	4	850	450
	5	702	390
A.J.L.	B	480	170
	1	595	240
	2	1000	285
	3	740	296
	4	873	310
	5	506	235

RESULTADOS

1.000 U.I. DIARIAS.

TESTOSTERONA	\bar{x}	S.E.M.
BASAL	593	31
DIA 1	736	35
DIA 2	1031	70
DIA 3	1012	82
DIA 4	1016	90
DIA 5	812	60
GLUCURONATO TESTOSTERONA	\bar{x}	S.E.M.
BASAL	182	22
DIA 1	244	18
DIA 2	285	27
DIA 3	364	40
DIA 4	329	20
DIA 5	284	18

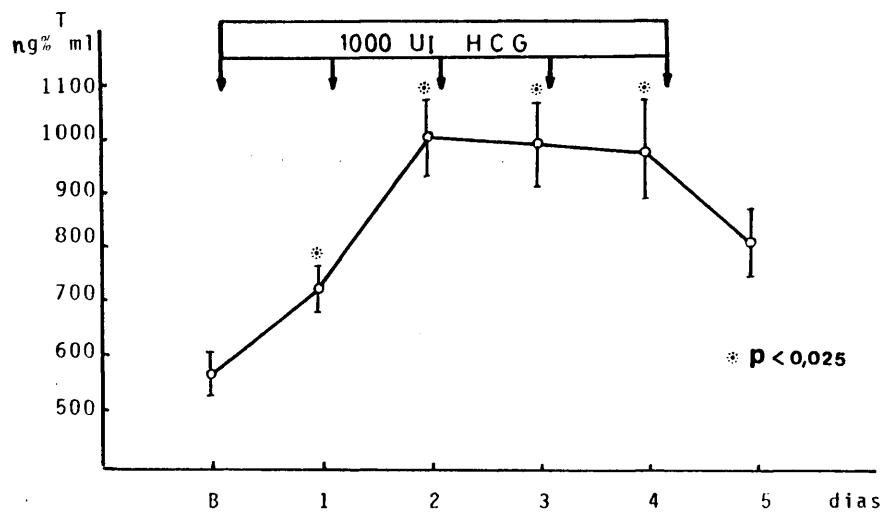


FIG. C - 9

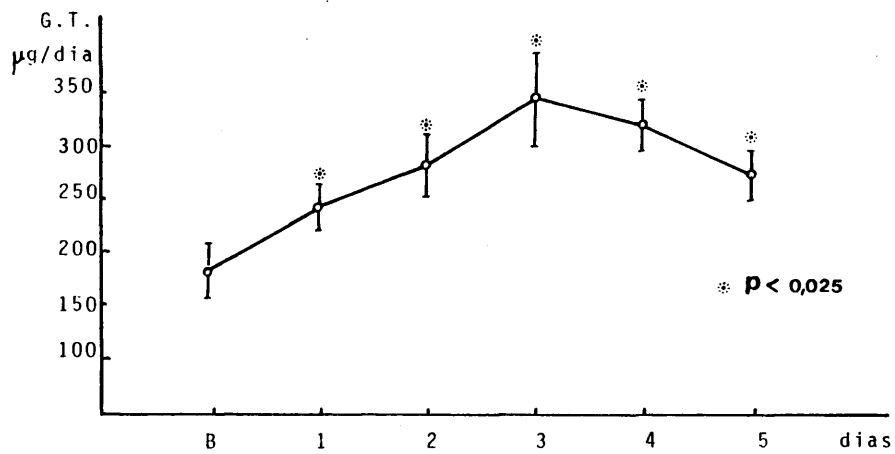


FIG. C - 10

C - 4 DINAMICA DE LA SECRECION DE TESTOSTERONA Y 17-OH-PROGES-
TERONA EN 6 VOLUNTARIOS NORMALES TRAS UNA UNICA INYECCION
DE 2.500 U.I. DE HCG SEGUIDOS DURANTE 30 HORAS

En la tabla C-XI se encuentran los valores basales de testosterona y los hallados tras una unica inyección de 2.500 U. I. de HCG en 6 voluntarios normales. Se hizo extracción de sangre a las 3, 6, 9, 15, 24 y 30 horas de la inyección intramuscular de gonadotrofina corionica.

Se puede observar en la Fig. C-11 como la curva es absolutamente plana, con valores no significativos hasta las 30 horas en que se logra un incremento de 300 ng/100ml con respecto a la basal, que es altamente significativo ($p < 0,025$).

En los mismos sujetos y a las mismas horas se determino 17-OH-progesterona produciendose elevaciones que se expresan en incrementos porcentuales sobre la basal (tabla C-XII). Se puede observar en la Fig. C-12 como se produce una elevación a partir de las 15 horas que llega a ser maxima a las 24 y 30 horas, con unos incrementos del 86 y 84%, respectivamente, con respecto al control y con una alta significación estadística ($p < 0,025$).

Observamos que tanto la testosterona como la 17-OH-progesterona se encontraban en un pico de elevación a las 30 horas y por tanto consideramos que los tiempos de la dinamica eran insuficientes, ya que quedaban en una meseta de estimulación, por lo que decidimos hacer otra dinamica mas larga para intentar ver cuando se lograba la maxima respuesta con una sola inyección de 2.500 U.I. de HCG.

Lo exponemos a continuación.

DINAMICA DE SECRECCION DE TESTOSTERONA TRAS UNA
UNICA INYECCION DE 2.500 U.I. DE HCG SEGUIDA DURANTE
30 HORAS (DINAMICA CORTA).

TESTOSTERONA =====	\bar{x} =====	S.E.M =====
BASAL	695	113
3 HORAS	825	130
6 HORAS	850	148
9 HORAS	820	154
15 HORAS	861	109
24 HORAS	808	100
30 HORAS	995	110

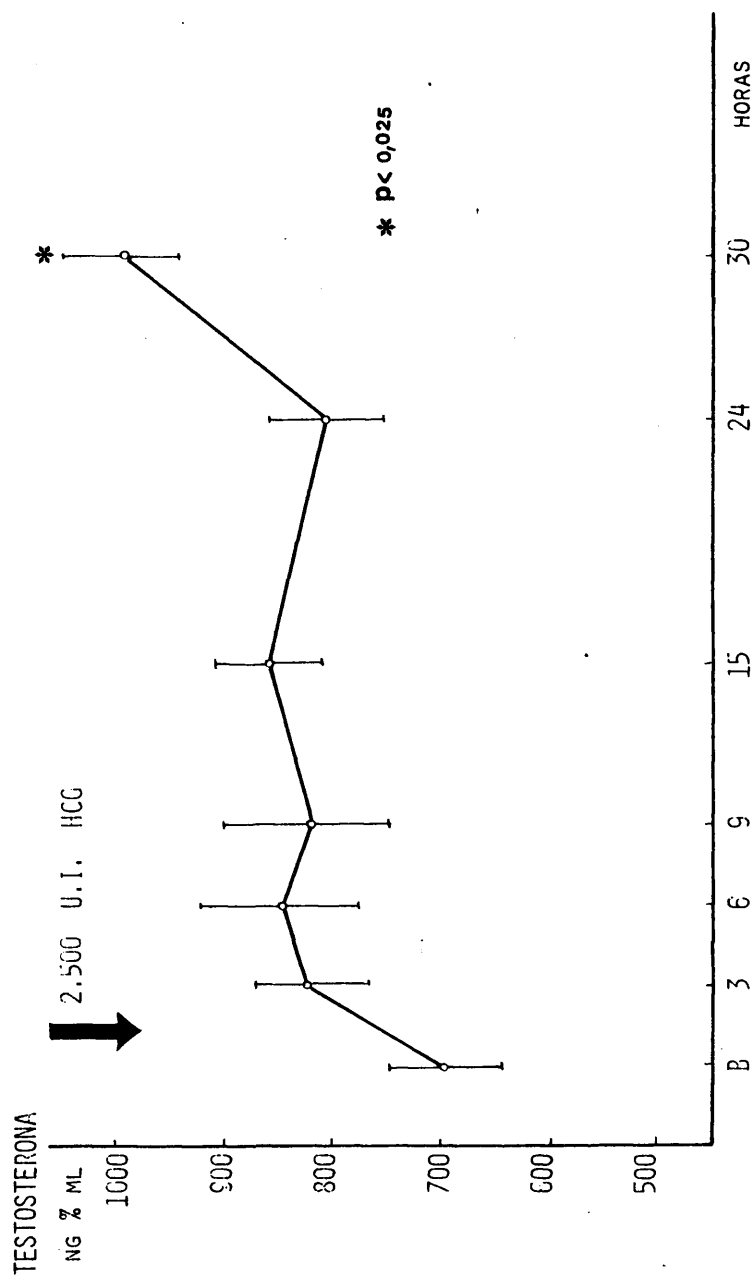


FIG. C-11 DINAMICA DE SECRECION DE TESTOSTERONA (30 HORAS) TRAS 2.500 U.I. DE HCG

DINAMICA DE SECRECCION DE 17-OH-PROGESTERONA TRAS
 UNA UNICA INYECCION DE 2.500 U.I. DE HCG SEGUIDA DURANTE
 30 HORAS (DINAMICA CORTA) EXPRESADAS EN INCREMENTOS PRO-
 CENTUALES SOBRE EL CONTROL.

17 - OHP =====	\bar{x} =====	S.E.M. =====
BASAL	100 %	4
3 HORAS	103 %	7
6 HORAS	99 %	7
9 HORAS	101 %	5
15 HORAS	121 %	12
24 HORAS	186 %	14
30 HORAS	184 %	5

TABLA C - XII

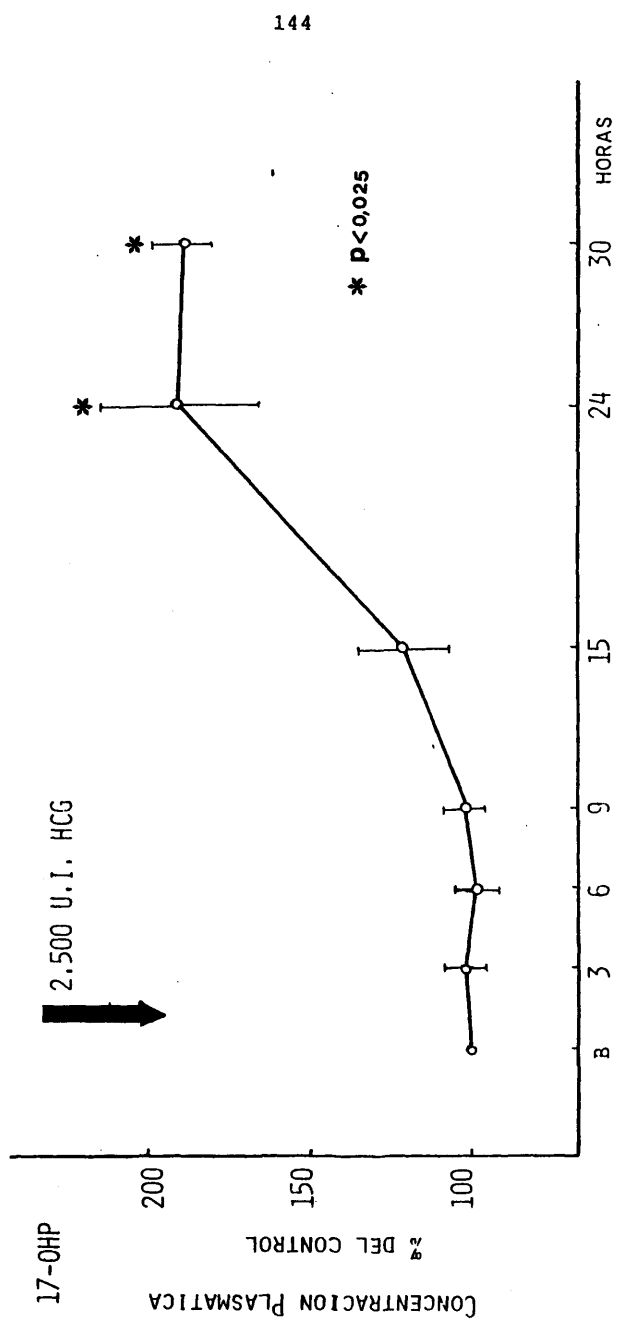


FIG C-12 DINAMICA DE SECRECCION DE 17-OHP (30 HORAS) TRAS ESTIMULO DE 2500 U.I. DE HCG.

C - 5 DINAMICA DE LA SECRECION DE TESTOSTERONA Y DE 17-OH-PRO-
GESTERONA EN 7 VOLUNTARIOS NORMALES TRAS UNA UNICA INYEC-
CION DE 2.500 U.I. DE HCG SEGUIDOS DURANTE 114 Y 60 HORAS
RESPECTIVAMENTE

En 7 voluntarios normales se administró 2.500 U.I. de HCG intramuscular y se les hizo determinaciones basales y a las 6, 12, 24, 30, 36, 48, 54, 60, 72, 78, 84, 96, 102, 108, y 114 horas, para cuatificación de testosterona y a los mismos tiempos hasta las 72 horas para 17-OH-progesterona.

En el caso de la testosterona (tabla C-XIII) se observa un aumento de 260 ng/100ml con respecto a la basal a las 30 horas que es significativo estadísticamente ($p < 0,025$). Sin embargo los máximos incrementos se logran a las 54, 72 y sobre todo a las 60 horas, con una gran significación estadística en estos tres puntos ($p < 0,01$), produciéndose luego un descenso a las 78 horas que ya no se modifica hasta las 114 horas (Fig. C-13).

Se ha hecho una correlación estadística entre las máximas elevaciones (60 horas con respecto a otros puntos de interés, como pudieran ser a las 24, 48, 96 y 114 horas encontrando que esta diferencia es altamente significativa ($p < 0,01$), no existiendo significación entre los valores a las 60 y los de las 54 y 72 horas.

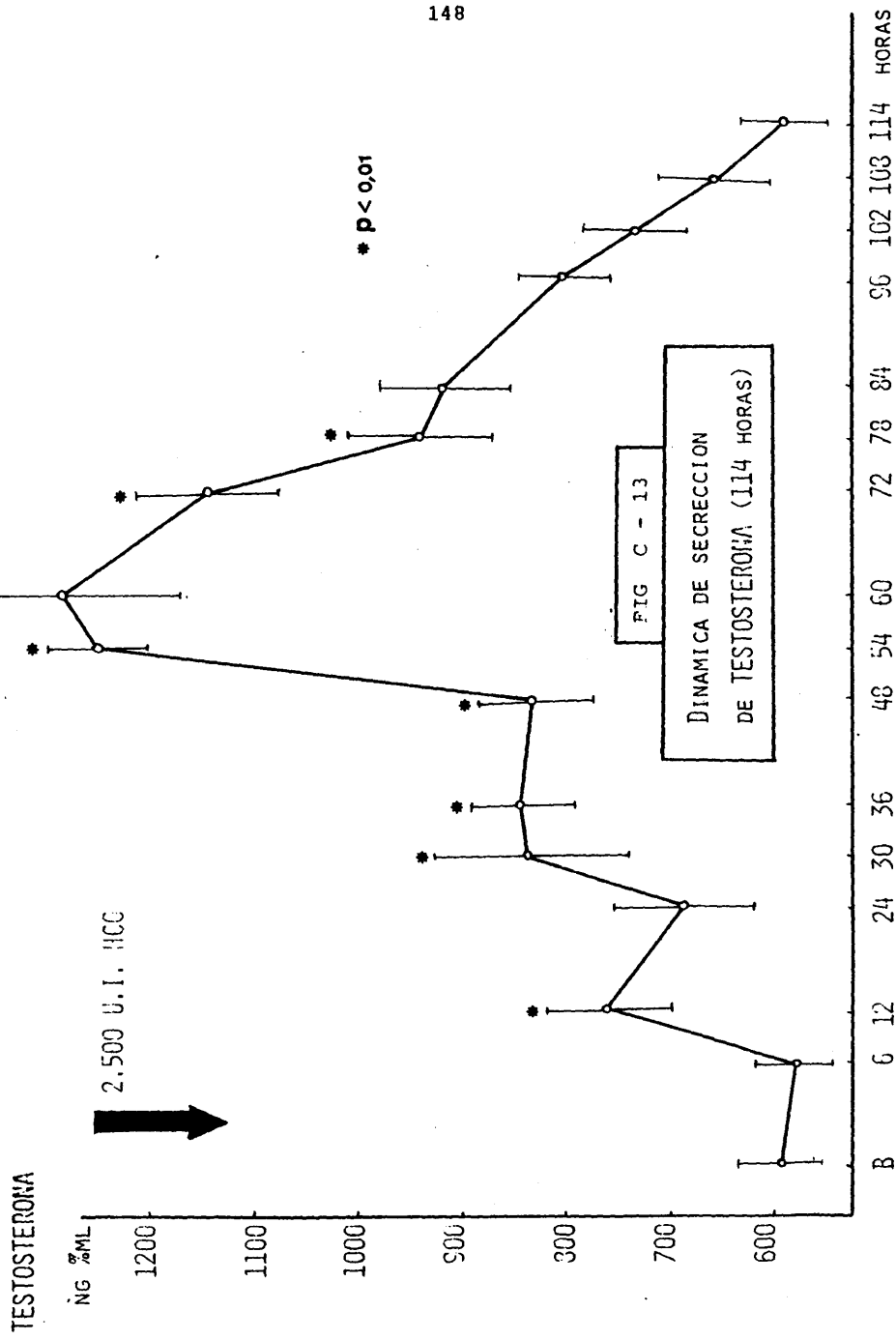
Asimismo, en el caso de la 17-OH-progesterona (tabla C-XIV) se observa una elevación con respecto a la basal que comienza a ser manifiesta a las 24 horas, siendo máxima a las 30 horas (119% sobre el control), comenzando luego un descenso hacia valores similares a los basales a partir de las 54 horas que ya no se modifican, con lo que no se hace la representación a partir de las 72 horas. Estadísticamente son valorables las cifras a las 24, 30, 36 y 48 horas con una $p < 0,01$ (Fig. C-14).

Como hicimos en el caso anterior se hizo una correla-

ción entre el pico máximo (30 horas) y otros puntos de la curva, encontrando una significación estadística a las 6, 36 y 48 horas ($p < 0,01$) y algo menor a las 12 horas ($p < 0,025$).

DINAMICA DE SECRECCION DE TESTOSTERONA TRAS UNA
 INYECCION DE 2.500 U.I. INTRAMUSCULAR DE HCG SEGUIDA
 DURANTE 114 HORAS.

TESTOSTERONA =====	\bar{x} =====	S.E.M. =====
BASAL	598	52
6 h.	575	70
12 h.	775	76
24 h.	686	103
30 h.	858	211
36 h.	864	138
48 h.	853	184
54 h.	1364	163
60 h.	1392	271
72 h.	1150	193
78 h.	967	154
84 h.	935	138
96 h.	792	95
102 h.	725	117
108 h.	654	127
114 h.	542	110



DINAMICA DE SECRECCION DE 17-OH-PROGESTERONA TRAS
 UNA UNICA INYECCION DE 2.500 U.I. DE HCG SEGUIDA DURANTE
 72 HORAS (DINAMICA LARGA) EXPRESADAS EN INCREMENTOS
 PORCENTUALES SOBRE EL CONTROL.

17-OHP =====	\bar{x} =====	S.E.M. =====
BASAL	100 %	-
6 HORAS	118 %	16 %
12 HORAS	157 %	41 %
24 HORAS	203 %	29 %
30 HORAS	219 %	32 %
36 HORAS	180 %	24 %
48 HORAS	146 %	17 %
54 HORAS	102 %	12 %
60 HORAS	101 %	16 %
72 HORAS	100 %	16 %

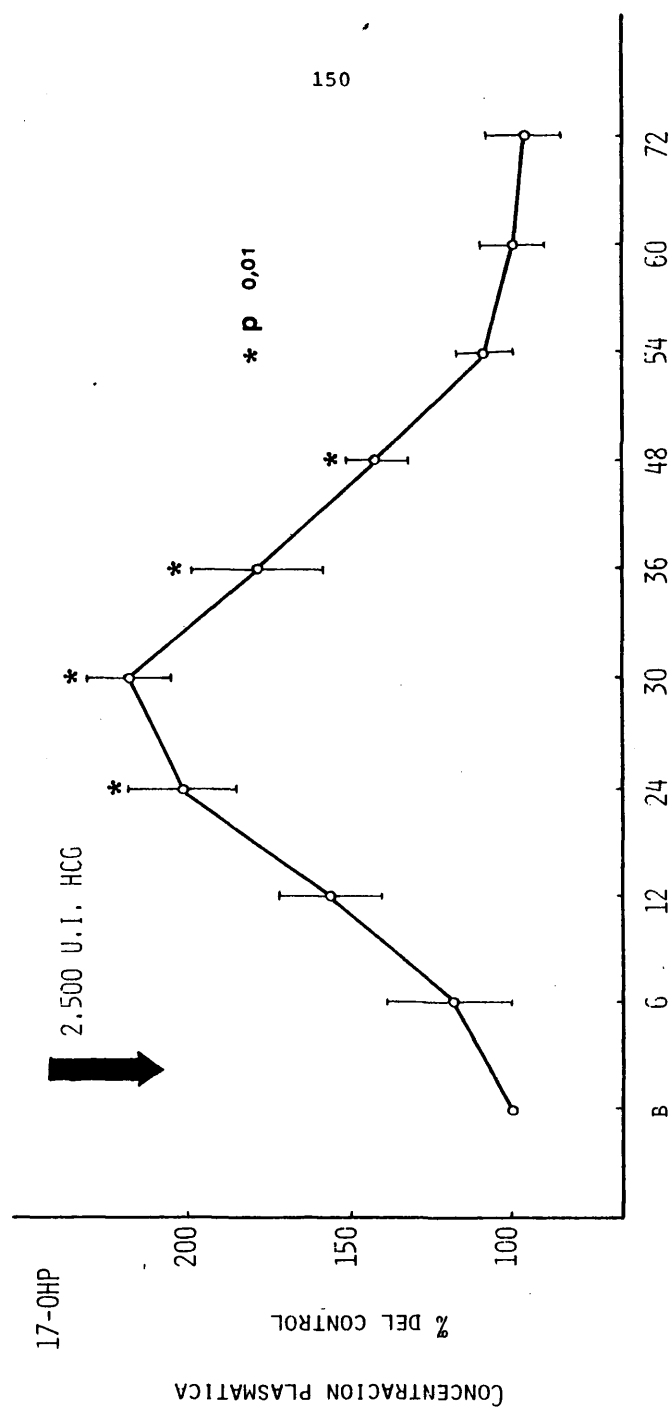


FIG C-14. DINAMICA DE SECRECCION DE 17-OHP (72 HORAS) TRAS ESTIMULO DE 2500 U.I. DE HCG.

C - 6 TESTOSTERONA EN SANGRE BASAL Y TRAS RESPUESTA AL ESTIMULO
CON UNA INYECCION DE 2.500 U.I. DE HCG EN DIFERENTES ES-
TADOS PATOLOGICOS

Se realizaron pruebas de estímulo con una inyección intramuscular de 2.500 U.I. de HCG en enfermos que presentaban diferentes alteraciones del eje hipotálamo-hipofiso-testicular. Se diferenciaron tres grupos según tuvieran las gonadotrofinas altas bajas, o normales.

El grupo que cursaba con gonadotrofinas altas presentaba patología variada como afectación global del testículo, atrofia del epitelio germinal, anorquia y síndrome de Klinefelter (n = 11)

El grupo de gonadotrofinas bajas incluía enfermos en situación prepuberal, panhipopituitarismo de origen tumoral o quirúrgicos, hipogonadismos hipogonadotróficos, síndrome de Maestre de San Juan y criptorquidia bilateral (n = 12).

El tercer grupo que presentaba gonadotrofinas normales estaba constituido por enfermos por impotencia sin alteración hormonal.

Los diagnósticos agrupados pueden verse en la tabla C-XV.

A todos ellos se les hizo una prueba de estímulo con 2.500 U.I. de HCG, extrayendo muestras basales y los días 3 y 5 después del estímulo intramuscular (tabla C-XVI).

En el grupo de gonadotrofinas altas no se observa respuesta como era previsible.

En el grupo de gonadotrofinas bajas se produce un mayor incremento altamente significativo ($p < 0,01$) a las 72 horas que corresponde al 336% con respecto a la basal. Asimismo significa-

tivo era el incremento a las 120 horas ($p = 0,01$). Similar comportamiento se observaba en el grupo con gonadotrofinas normales, aunque el incremento de la respuesta al tercer día era menor, dado que la basal era mas alta ($\Delta = 170\%$, $p < 0,025$).

La representación gráfica de estos resultados se puede observar en las Fig. C-15 y C-16.

GONADOTROFINAS ELEVADAS

=====

Afectacion global testicular	4 casos
Atrofia del epitelio germinal	1 caso
Anorquia	1 caso
Sindrome de Klinefelter	4 casos
Sindrome XXYY	1 caso

Total 11 casos

GONADOTROFINAS BAJAS

=====

Panhipopituitarismo	3 casos
Hipogonadismo hipogonadotrofico	2 casos
Sindrome de Maestre de San Juan	2 casos
Retraso puberal	3 casos
Criptorquidia bilateral	2 casos

Total 12 casos

GONADOTROFINAS NORMALES

=====

Impotencia	5 casos
------------------	---------

Total 5 casos

15h

GONADOTROFINAS ELEVADAS =====	BASAL =====	3° día =====	5° día =====
B.V.V. Af.global testicular	332	350	290
S.R.L. " " "	160	200	200
R.M.T. " " "	300	300	-
B.V.B. Atrof. epit. germ.	332	942	-
R.M.H. Anorquia	101	82	-
J.C.V. S. Klinefelter	348	378	350
J.V.C. " " "	132	120	120
J.M.A. " " "	147	110	100
I.J.D. " " "	208	253	242
A.R.S. Sindr. XXY	160	120	120
	$\bar{X}=227$ SEM= 26	$\bar{X}=217$ SEM= 32	$\bar{X}=235$ SEM= 35

GONADOTROFINAS BAJAS =====			
A.R.N. Panhipopituitarismo	52	413	410
F.F.M. " " "	200	234	160
V.L.M. " " "	75	300	372
C.A.G. Hipog. hipogonadotrof.	65	700	-
E.C.L. " " "	54	124	210
J.L.F. S. Maestre San Juan	120	400	400
P.N.M. " " " "	150	1031	1087
A.A.L. Retraso puberal	711	920	960
M.V.Z. " " "	128	1026	1482
C.G.G. " " "	170	370	340
L.R.R. Criptorquidia bilateral	460	1174	1100
F.H.C. " " "	209	690	354
	$\bar{X}=191$ SEM= 55	$\bar{X}= 643$ SEM= 98	$\bar{X}=615$ SEM=128

GONADOTROFINAS NORMALES =====			
J.F.B. Impotencia	500	1025	799
M.B.V. " " "	877	1315	900
R.T.G. " " "	266	380	476
J.R.M. " " "	792	945	-
E.D.P. " " "	170	800	1032
	$\bar{X}=526$ SEM=155	$\bar{X}=893$ SEM=157	$\bar{X}=750$ SEM=148

TABLA C -XVI

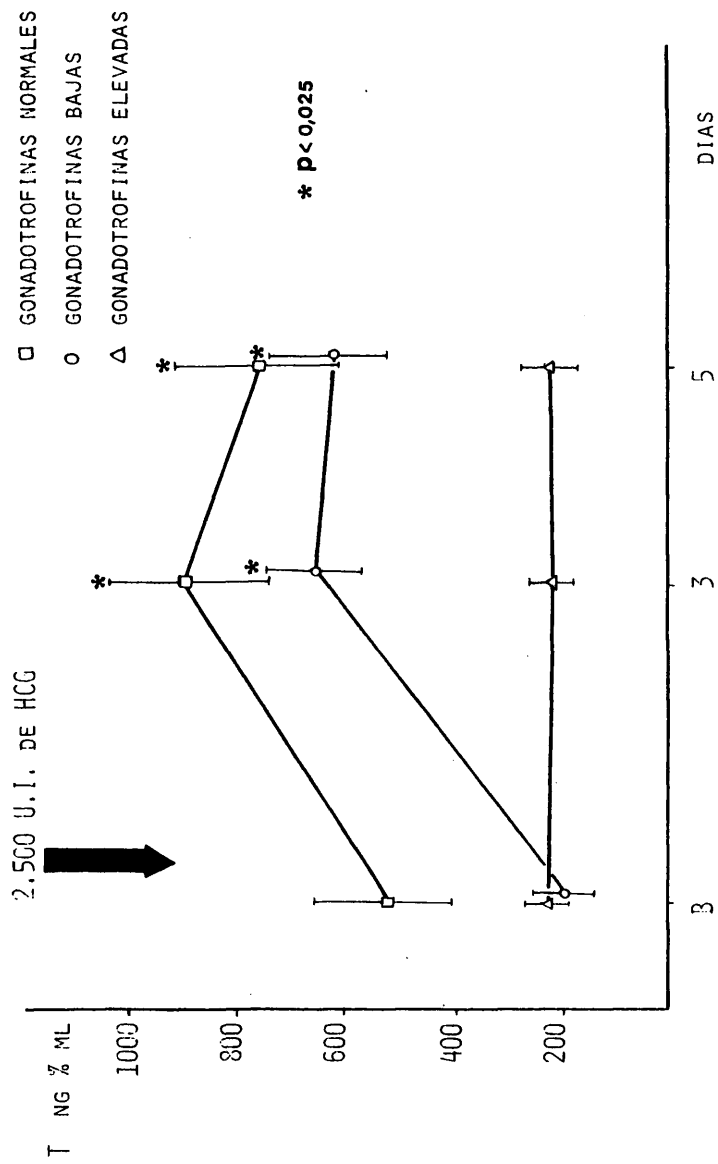


FIG C-15. PRUEBA DE ESTIMULO CON 2500 U.I. DE HCG EN DIFERENTES ESTADOS PATOLOGICOS.

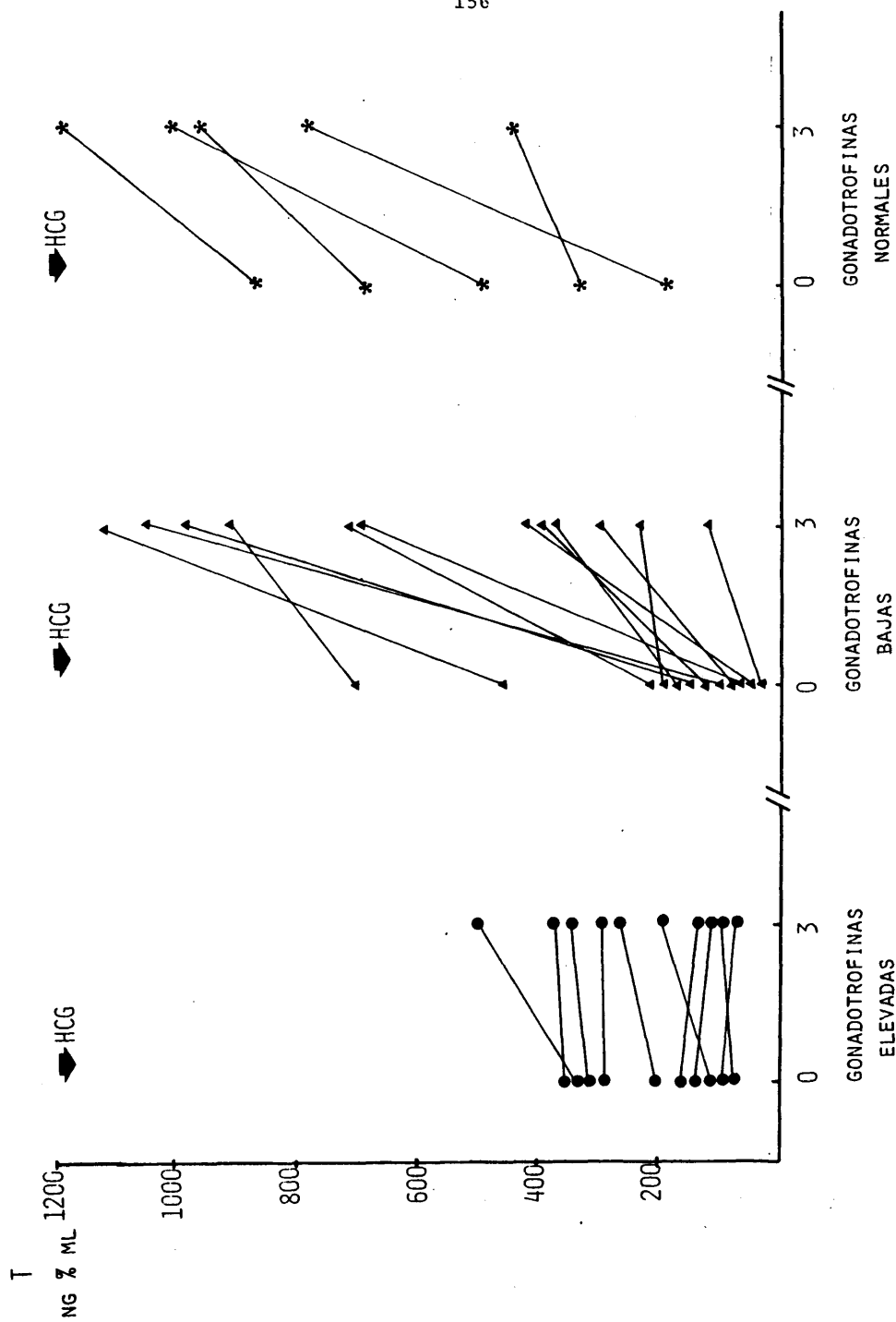


FIG C-16

154

D. DISCUSSION

D - 1 VALORES NORMALES BASALES

La medida de la testosterona en sangre es un método válido para la evaluación de la función del testículo. Sin embargo, los métodos para su determinación, tales como la cromatografía de gases con captura de electrones (KIRSNER, 1968; VERMEULEN, 1971) o de doble dilución isotópica (MAYER y NUGENT, 1968) eran excesivamente complicados y tediosos para ser aplicados a la rutina diaria.

Hoy en día los métodos más utilizados son los basados en análisis de saturación o de desplazamiento competitivo, que utilizan la proteína transportadora (competitive protein binding o CPB) o un antisuero específico (radioinmunoanálisis o RIA). Este tiene mayor sensibilidad y especificidad e incluso mayor reproducibilidad (FURUYAMA y cols 1970).

Hemos utilizado el método de TRESGUERRES y cols (1975), que es un método sencillo y rápido de RIA. Los valores normales encontrados oscilan entre 300 y 750 ng/100ml, y son quizás ligeramente superiores a los de los métodos que utilizan purificación del extracto previo al RIA, pero por su sencillez lo consideramos adecuado para su uso clínico en la valoración de la función testicular.

Los valores obtenidos en nuestros controles tienen un rango que oscila entre 325 y 833 ng/100ml, con una media de 525 ± 129 similares a los encontrados en la literatura por otros autores (SAEZ y BERTRAND, 1968; KIRSHNER y cols 1968; VERMEULEN, 1971, FURUYAMA y cols 1970; VERJANS y cols 1973; FORTI y cols 1974; etc).

No obstante y como determinación única y en condiciones basales, a veces puede ser un índice falaz, dado que nos indica la resultante entre la producción testicular y el aclaramiento metabólico en un momento determinado pero no nos aporta datos

sobre la reserva funcional del testículo, por lo que hay veces que no puede ser considerada como un factor discriminador del estado testicular. Ya hemos mencionado anteriormente que la secreción de testosterona es episódica, y los valores pueden ser muy diferentes en cortos periodos de tiempo, así según se considere el nadir o la parte superior del pico. Para obviar estas fluctuaciones, cuando se quiera valorar las cifras de testosterona basal se deben hacer al menos dos extracciones con 15 minutos de intervalo y mezclarlos en un "pool", en el cual se hará la determinación de la muestra, con lo que se conseguirá y así lo hemos realizado nosotros, una mayor homogeneidad de los resultados.

Quizá un mejor índice de valoración de la testosterona realmente activa a nivel celular, sería la determinación de testosterona libre, que puede realizarse por métodos de dialisis en equilibrio (HORST, 1977), aunque aun no estan suficientemente introducidos en la clínica y solo se utilizan en la actualidad en algunos laboratorios de investigación.

La medición del glucuronato de testosterona en orina de 24 horas constituye otro buen índice del estado androgenico del varón, ya que integra la producción diaria de testosterona, a través de la medida de uno de sus metabolitos.

Hemos utilizado el método de TRESGUERRES y cols (1976), que es un procedimiento muy sencillo que se realiza en alícuotas de orina muy pequeñas. Se evita de esta manera las variaciones difíciles de controlar, debidos a los procesos de hidrólisis enzimática o ácida y la extracción subsiguiente de la aglicona.

Los valores de GT en orina de nuestros sujetos son de 164 ± 51 microgramos en 24 horas, con un rango entre 97 y 346. Estos datos son algo inferiores a otros reportados en la literatura (KELLIE, 1972; HENNAM y cols 1973) debido quizá a una mayor especificidad del anticuerpo. Si consideramos la medida de GT tras su hidrólisis (CAMACHO y MIGEON, 1963; GOLDZIEHER y WILLIAMS,

1971) los valores son algo mas elevados. Pero si tenemos en cuenta la relación de pesos moleculares de testosterona o de glucuronato de testosterona (288 a 465) nos dan valores absolutamente su perponibles.

Una disminución en los niveles basales de testosterona o glucuronato de testosterona nos indica -hechas todas las salvedades mencionadas anteriormente- un fallo en la producción testicular. Este fallo puede ser primario, secundario o mas alto (ver introducción con los distintos tipos de alteraciones testiculares). Para diferenciar estos casos, así como para asegurar el diagnostico, en aquellas situaciones de duda se recurrirá al estímulo con HCG.

D - 2 ESTIMULO CON HCG

La HCG se utiliza en la clínica como prueba de estimulación para determinar la reserva funcional de las células testiculares, y como agente terapéutico para inducir el desarrollo de la pubertad, provocar el descenso testicular o mantener la función del testículo en enfermos con hipogonadismo hipogonadotróficos.

Aquí nos ocuparemos únicamente de ella como prueba de estímulo, cuyas indicaciones clínicas son preferentemente:

- Determinar la presencia de tejido testicular en los casos de supuesto hermafroditismo o criptorquidia.
- Para establecer la reserva funcional de las células de Leydig.

La HCG se comporta de manera similar a la LH, y su composición peptídica es muy parecida, aunque difiere de ella en que tiene una vida mucho mayor debido a su alto contenido en ácido sialico. Se ha confirmado que cuando se administra HCG por vía intramuscular, las cantidades detectadas en plasma persisten elevadas varios días después de la administración (ANDERSON y cols. 1972). Este hecho tiene su importancia, ya que trabajos realizados en ratas (SHARPE, 1976) y en humanos (ANDERSON y cols. 1977) indican que una segunda dosis de HCG puede ser ineficaz, si es administrada 48 horas (en ratas) o 72 horas (en el hombre) después de la primera inyección de HCG.

----o 0 o----

Las hormonas polipeptídicas son capaces de regular la concentración de sus receptores específicos en las células diana.

En el testículo existen receptores para la LH, y en con

diciones normales solo una pequeña cantidad de ellas necesita ser ocupada -aproximadamente el 10%- (BARDIN, 1980) para dar lugar a una adecuada respuesta de la testosterona. Por tanto las células de Leydig contienen una considerable reserva de receptores para la LH/HCG.

Recientemente ha sido descrita la autoregulación de los receptores testiculares de LH/HCG, también llamada regulación baja (DOWN-REGULATION) (SHARPE, 1976; CHEN y PAYNE, 1977; HAOUR y SAEZ, 1977; PURVIS y cols 1977; HUHTANIEMI y cols 1978). Estos autores han demostrado que si tratamos a ratas macho con altas dosis de HCG, se produce una disminución de los receptores disponibles de LH/HCG, que no puede ser explicado por su saturación. AUCLAIR, en 1977 ha demostrado, usando un potente agonista del GnRH en la rata, que la LH endógena es capaz también de disminuir la población de los receptores testiculares.

Por otro lado si inyectamos en ratas altas dosis de HCG tras la respuesta aguda de la esteroidogénesis testicular, se produce un periodo refractario al estímulo con HCG (TELL y cols 1978): fenómeno de insensibilidad testicular. Este va a depender en opinión de SAEZ y cols 1979, de la dosis utilizado y del tiempo de administración.

Esta desensibilización o periodo refractario de la esteroidogénesis en la células de Leydig de la rata es un complejo proceso que incluye una serie de fenómenos:

- a) Disminución del número de lugares para la acción de la HCG.
- b) Modificaciones del sistema de acoplamiento entre los lugares de acción y la adenilciclase.
- c) Alteración de algunas etapas de la esteroidogénesis antes de la formación de AMP-c.

ESTIMULOS CON H.C.G. POR VIA INTRAMUSCULAR

TABLA D - I

AÑO ==	AUTORES =====	DOSIS =====	ADMINISTRACION =====	TIEMPO =====
1965	KIRSCHNER, LIPSETT, COLLINS	2.000	UNICA	1
1966	LIPSETT y cols.			
	RIVAROLA y SAEZ	5.000	Diaria	7 dias
1969	BARDIN, ROSS, GARGILE	4.000	Diaria	4 dias
1971	ETTINGER	2 - 3.000	Diaria	2 dias
1972	TARASKA, WINTER, FAIMAN	2.000	Diaria	3 dias
1972	ANDERSON, MARSHALL, YOUNG	2.000	Diaria	5 dias
1972	WEINSTEIN, KELCH, JENNER, KAPLAN y GRUMBACH	5.000	Diaria	4 dias
1972	LITTMAN y GERDES	5.000	Diaria	3 dias
1975	MAHOUDEAU, VALCKE, BRICAIRE	5.000	Diaria	3 dias
1975	ISHIMARU	3.000	Diaria	3 dias
1979	BABLOCK, JANCZEWSKI, CZAPLINCKI	2.000	Diaria	4 dias
1979	HERRERA JUSTINIANO y cols	5.000	Diaria	3 dias
1979	SMALS, PIETERS y KOPPENBORG	1.500	Diaria	3 dias
1979	FOREST, LECOQ, SAEZ	6.000	UNICA	1

Así se ha observado una disminución de la formación de pregnenolona (SAEZ y cols 1979) y una disminución de la conversión de progesterona a androstenediona (CIGORRAGA y cols 1978). Durante el periodo de insensibilidad testicular, según SAEZ y cols, la actividad microsomal de la 17-20-liasa esta fuertemente reducida, mientras que la 17-alfa-hidroxilasa esta algo disminuida.

Este nuevo concepto de la reducción de los receptores para LH/HCG, es de capital importancia para analizar los test de estimulación con HCG.

-----o o o-----

La literatura esta plagada de una gran diversidad de pruebas de estimulo con gonadotrofina corionica, con diferentes pautas y a distintas dosis, como puede ser observado en la tabla D-I.

Así las dosis de HCG oscilan entre 1.500 y 6.000 U.I. administradas por via intramuscular, en inyección unica (KIRSCHER, LIPSETT y COLLINS, 1965 y FOREST, LECOQ y SAEZ, 1979) o la mas generalizada inyección diaria, durante 3 a 7 días, aunque la mayoría de los autores no suele administrar la HCG mas de 3 ó 4 días.

Mucho menor profusión han tenido los estímulos intravenosos (tabla D-II), cuya dosis oscila entre 500 y 5.000 U.I. de HCG, haciendo valoraciones de las respuestas en un tiempo que oscila entre 2-3 horas (MAURER y cols 1971 y KRAUSE, 1980) y 12-24 horas (VIVANCO y cols 1973). En general se consigue una respuesta mas rapida, pero no se puede separar correctamente los fallos primarios de los secundarios y terciarios.

Tampoco existe uniformidad en el tiempo en el cual se logra el maximo estimulo, aunque en general este va a oscilar entre el tercero y quinto día, tras el estímulo por via subcuta-

ESTIMULOS CON H.C.G. POR VIA INTRAVENOSA

AÑO ===	AUTORES =====	DOSIS =====	TIEMPO =====
1971	MAURER, TAMM, VOLKWEIN	500	3 horas
1973	VIVANCO, G. GANCEDO, RAMOS	5.000	12-24 horas
1980	KRAUSE	5.000	2 horas

165

TABLA D - II

nea (SAEZ y FOREST, 1979; NANKIN y cols 1980).

En este sentido y dada la pluralidad de estímulos y dosis como nosotros pretendimos valorar en un primer momento cual era la dosis mas adecuada y con que cadencia se debía administrar la HCG.

Se hicieron 5 grupos de voluntarios a los que se administraron HCG a dosis de 5.000 U.I. diarias, 5.000 U.I. alternas, 2.500 U.I. diarias, 2.500 U.I. alternas y 1.000 U.I. diarias, como se puede observar de las figuras C-1 a C-10.

Con respecto a la testosterona plasmática, se puede observar que la máxima respuesta se obtiene con 2.500 U.I. diarias, superior a la encontrada con 1.000 U.I. diarias. Con el resto de los estímulos se logran respuestas, que aunque son estadísticamente significativas, son claramente inferiores a las señaladas anteriormente.

En la Fig. D-1 se observan comparativamente los diferentes estímulos y en la Fig. D-2 se exponen sus ecuaciones de regresión donde se evidencian mas claramente estos datos.

El tiempo en el que encontramos la máxima respuesta al estímulo es alrededor de las 72 horas. Los resultados son similares a los encontrados por ETTINGER (1971), TARASKA, WINTER y FAIMAN (1972), ANDERSON, MARSHALL, YOUNG y FRASER (1972), ISHIMARU (1975), todos ellos realizados con 2.000-3.000 U.I. de HCG y similares también a los de LIPSETT y cols (1966), RIVAROLA y cols (1966), BARDIN, ROSS y GARGILE (1969), WEINSTEIN y cols y LITTMAN y GERDES (1972), MAHOUDAU y cols (1975), HERRERA JUSTINIANO y cols (1979) y SMALS y cols (1979) que estan realizados con dosis de 5.000 U.I.

Es de señalar que las dosis no por ser mas altas consiguen respuestas mayores, y así se puede comprobar como con

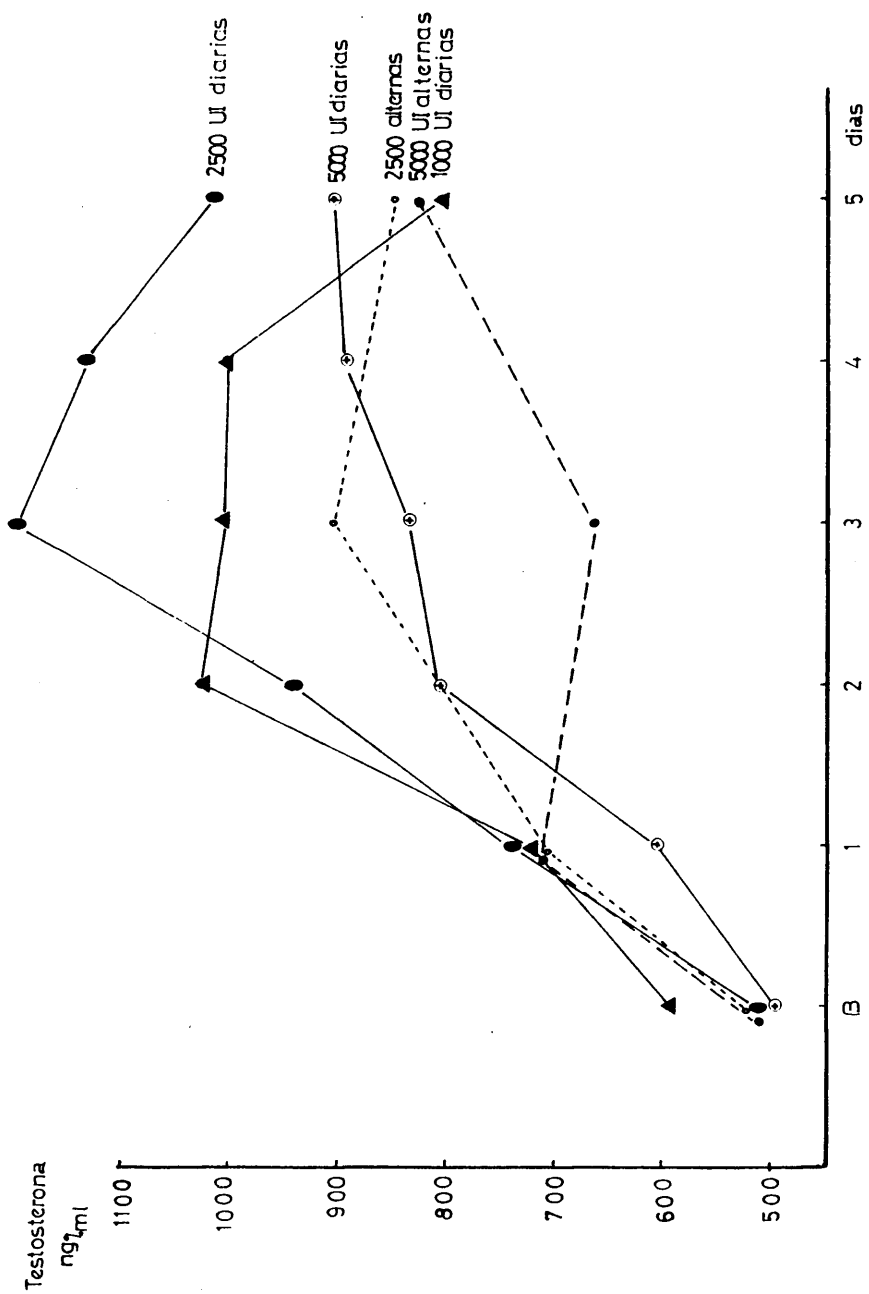


FIG D-1. RESPUESTA DE LA TESTOSTERONA PLASMÁTICA A LOS DIFERENTES ESTIMULOS DE HCG

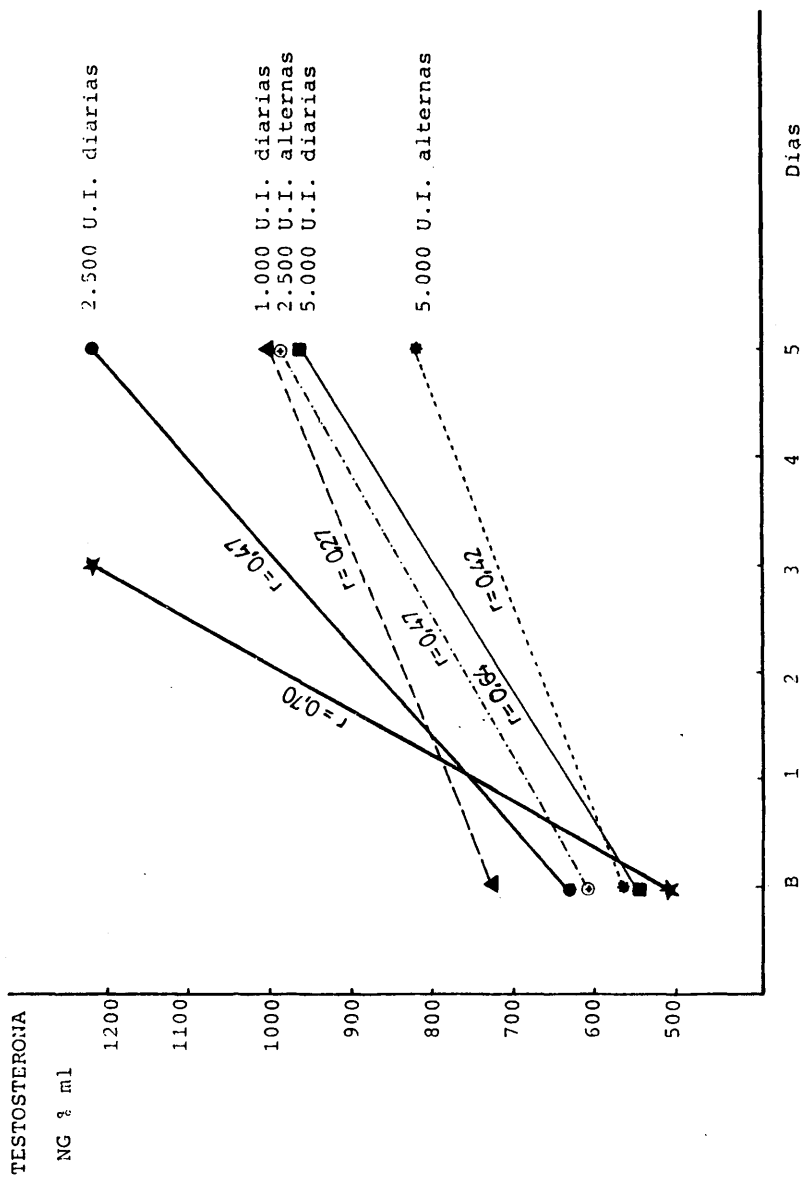


FIG D-2. ECUACIONES DE REGRESION DE LOS DIFERENTES ESTIMULOS CON H.C.G.

2.500 U.I. y 1.000 U.I. intramusculares, administradas diariamente observamos mayores respuestas incluso que con las dosis de 5.000 U.I. diarias. Los estímulos con las dosis alternas eran inferiores a las consignadas anteriormente, aunque en todas ellas había una respuesta estadísticamente significativa.

Hemos encontrado una respuesta similar de la testosterona plasmática con dosis repetidas y con la inyección única, hecho similar al observado por SMALS y cols (1979). La máxima elevación se logra en ambos casos entre las 60 y 72 horas, y esto puede ser debido a que los niveles circulantes de HCG inducen la máxima respuesta testicular con independencia de si la inyección se repite o no.

Otra explicación a este hecho puede ser que con la primera inyección se logra la máxima respuesta testicular, y que las inyecciones consecutivas actúan sobre las células de Leydig en situación de refractariedad absoluta o relativa, como defienden HAOUR y SAEZ (1977), SHARPE y cols (1976), HSUEH y cols (1976) y TSURUHARA y CATT (1977). El que esta insensibilidad sea absoluta o relativa dependerá de los niveles de HCG alcanzados y del tiempo de permanencia de los mismos por lo que quizás podríamos interpretar así el porque en las inyecciones alternas conseguimos menores respuestas que con las diarias.

El glucuronato de testosterona tiene una respuesta menor, aunque mas uniforme a los diferentes estímulos, encontrando el mayor aumento algo mas tardío (entre las 72 y 96 horas), salvo en el caso del estímulo con 2.500 U.I. diarias, en que se observa un doble pico máximo a las 48 y 96 horas (Fig. D-3).

Hay pocos estudios de estímulo con HCG siguiendo el glucuronato de testosterona (TAMM, 1980). El glucuronato de testosterona representa solo el 1-2% de la testosterona producida por el testículo (TRESGUERRES, 1979) y el resto se transforma en 17-cetoesteroides, por lo cual, aunque basalmente supone un buen

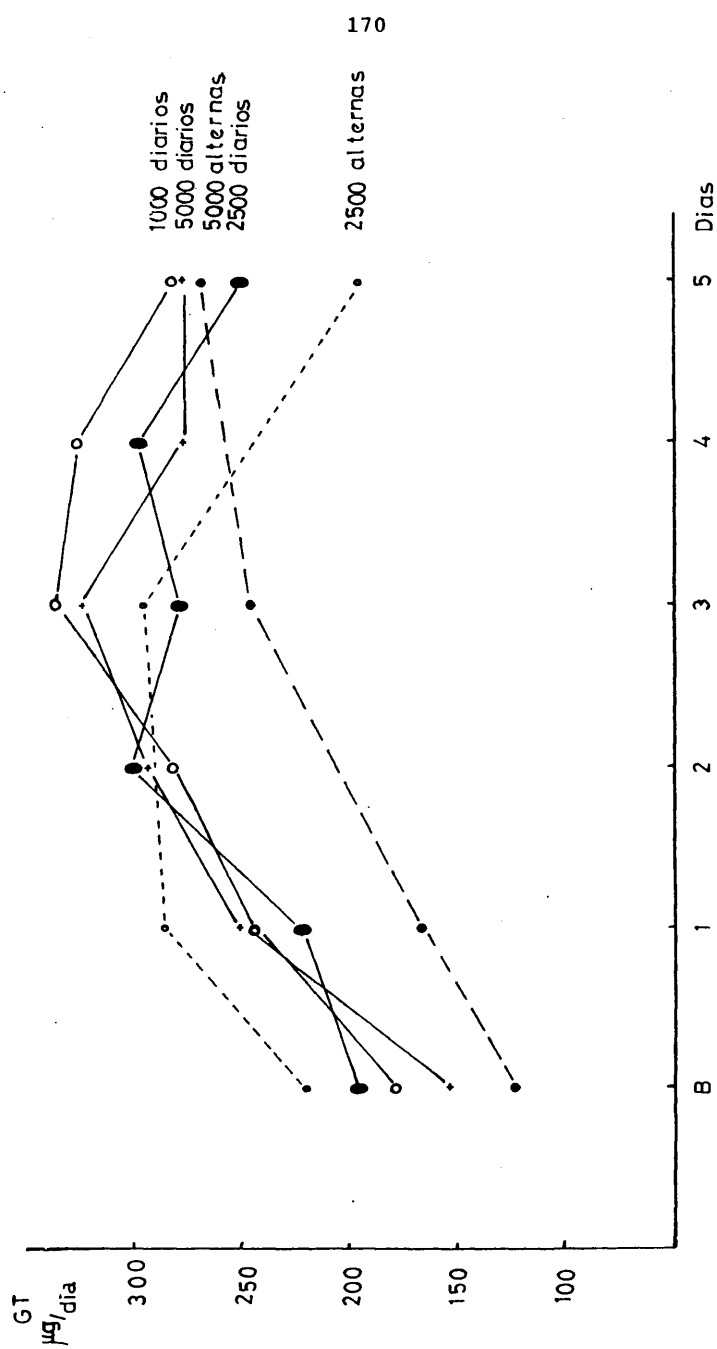


FIG. D-3. RESPUESTAS DEL GLUCURONATO DE TESTOSTERONA A LOS DIFERENTES ESTIMULOS DE HCG.

índice de la función testicular, quizá tras el estímulo existan factores enzimáticos limitantes (CIGORRAGA y cols 1978; SAEZ y cols 1979) que hagan que los datos encontrados no reflejen el incremento real de la testosterona testicular. Los datos que nos suministra la orina se encuentran mucho más agrupados (Fig. D-3) de lo que puede observarse en el plasma, dado que estamos midiendo la integración en 24 horas y no una concentración momentánea.

----o 0 o----

De cualquier manera con este primer experimento lo que intentamos fue valorar cuál era la menor dosis a administrar que consiguiese un máximo estímulo.

De todas ellas, se ve claramente en la gráfica de resultados que la más eficaz era la de 2.500 U.I. diarias, cifra muy parecida a la empleada por gran cantidad de autores (ETTINGER, 1972, TARASKA y cols 1972, ANDERSON y cols 1972, ISHIMARU, 1975 y BLACKLOCK y cols 1979) que utilizan dosis que oscilan entre 2.000 y 3.000 U.I., aunque ninguna de ellos uso concretamente 2.500 U.I. Nosotros lo hicimos con esta dosis por que existe un preparado comercial que contiene dicha dosis, y nos era por tanto, más fácil su empleo.

Una vez seleccionada esta dosis de 2.500 U.I. pasamos a la segunda fase de nuestro trabajo. Pretendimos valorar primero en normales y luego en patología si una única dosis lograría los mismos efectos de estimulación testicular y separación de poblaciones patológicas, que los observados con las dosis reiteradas.

Aquí introdujimos un nuevo parámetro, y era que tras la inyección única de 2.500 U.I. de HCG, valoramos la respuesta, no solo de testosterona plasmática, sino también de 17-OH-progesterona.

Hicimos una dinámica, que llamaremos CORTA, es decir

seguimos las cifras de testosterona y de 17-OH-progesterona, cada 3-6 horas durante 30 horas. Pudimos comprobar a la vista de los resultados (Fig. C-11 y C-12) que este seguimiento era insuficiente en el tiempo, ya que a las 30 horas la testosterona se mantenía en trayectoria de ascenso, mientras que la 17-OH-progesterona había alcanzado "plateau". Esto fue confirmado en los trabajos de FOREST y SAEZ (1979) que observaban que tras única inyección de 6.000 U.I. de HCG se comprobaba el máximo ascenso de la testosterona entre las 72 y 96 horas y la 17-OH-progesterona entre las 24 y 48 horas.

Por todo ello decidimos realizar una nueva dinámica (dinámica LARGA), administrando en un grupo de 7 varones normales 2.500 U.I. de HCG y siguiendo las concentraciones plasmáticas de testosterona y de 17-OH-progesterona cada 6 horas, durante 114 horas en el caso de la primera y durante 72 horas en el caso de la 17-OH-progesterona.

En nuestros resultados podemos observar que con la dosis única antes señalada, se observa la máxima respuesta de testosterona plasmática entre las 54 y 72 horas, con un pico máximo a las 60 horas, que corresponde al 232% de la basal, y que en tiempo ocurre unas horas antes (concretamente 24 horas antes) de lo reportado por FOREST y SAEZ en 1979 con 6.000 U.I. en inyección única, y prácticamente igual a los datos observados por SMALS y cols en 1979 con 1.500 U.I., y por NANKIN, MURONO y OSTERMAN (1980) con una dosis de 40 U.I./kg de peso, que corresponde a una 2.800 U.I. de HCG por individuo adulto.

Respecto a la 17-OH-progesterona en sangre, seguida en condiciones basales y tras una inyección única de 2.500 U.I. de HCG, hemos encontrado una mayor elevación de las cifras entre las 24 y 36 horas, con un cenit a las 30 horas que representa un 219% respecto a la basal, respuesta algo más precoz que la encontrada por FOREST y SAEZ (1979) quienes reportan la máxima elevación entre las 25 y 50 horas, y similar a la NANKIN y cols (1980) que

ocurre entre las 24 y 36 horas. Se vuelve a confirmar el hecho de que con dosis menores se consigue una respuesta mas precoz, o lo que es igual existiria un menor grado de insensibilización testicular.

El proceso estimulador de la esteroidogenesis tras la inyección de HCG, segun nuestros datos, muestra a las 30 horas un pico maximo de 17-OH-progesterona y a las 60 horas de testosterone.

Vamos a exponer brevemente como se van a ir produciendo los diferentes eventos desde que se administra la HCG: en un primer momento la gonadotrofina corionica va interaccionar con un receptor de membrana en la celula de Leydig. Se estimula esteroidogenesis y se produce 17-OH-progesterona que se transforma posteriormente en testosterone y esta se aromatiza a estrogenos. Tanto para la testosterone como para los estrogenos van a existir receptores citoplasmaticos que se van a traslocar al nucleo y posteriormente se produce el efecto hormonal.

Se especula con el hecho de que se produciria un incremento de la producción de estrogenos por las celulas de Leydig, que inhibirian transitoriamente la formación de androgenos, mediante la supresión de las actividades de 17-alfa-hidroxilasa y de 17-20-liasa (LONGCOPE y cols 1972 y WEINSTEIN y cols 1974), lo que condiciona un acumulo de precursores y una falta de producción de androgenos (JONES y cols 1978 y CHASALOW y cols 1980), que da lugar a una insensibilidad testicular transitoria.

Esto que habia sido demostrado en ratas, ha sido confirmado en el hombre (FOREST, LECOQ y SAEZ, 1979 y SMALS y cols 1980) encontrando acumulo de 17-OH-progesterona tras una inyección de HCG que llega al maximo entre las 24 y 30 horas. En nuestros casos observamos un mayor aumento entre las 24 y 36 horas.

Posteriormente se observa un periodo refractario con la

producción de testosterona, para posteriormente producirse una elevación de la misma que en nuestros controles alcanzaba su cenit entre las 60 y 72 horas.

¿Por que ocurre este hecho? DUFAU y cols (1979) opinan que los estrógenos jugarían un papel primordial en la insensibilidad testicular de las células de Leydig en ratas, ya que administrando un antiestrogénico (Tamoxifen) previamente, se previene la reducción de la respuesta de la testosterona a la HCG administrada intravenosamente.

Estos hechos han sido confirmados por SMALS y cols (1980) quienes han visto que si se administra tamoxifen durante 6 días a hombres normales, no se produce ningún cambio plasmático de la testosterona ni de la 17-OH-progesterona. Si se administra simultáneamente HCG y tamoxifen, no se observa el bloqueo en la esteroidogénesis, a nivel de acumulo de 17-hidroxiprogestero, que ocurre cuando se inyecta la HCG sola por vía intramuscular. Esto quiere decir que el antagonista estrogénico al ocupar el receptor para los estrógenos, impediría el efecto inhibitorio de la 17-20-liasa y por tanto no se bloquearía transitoriamente la síntesis de testosterona.

Como la célula de Leydig es el lugar donde más se produce la aromatización de testosterona a estrógenos, la significación fisiológica de estos acontecimientos pudiera ser que los estrógenos y sus receptores actuarían como reguladores locales de la función de las células de Leydig, a través de una inhibición de los enzimas que sintetizan la testosterona.

Al cabo de unas horas se produce un acumulo de 17-OH-progesterona y de progesterona, que en nuestros casos ocurrían entre las 24 y 36 horas, existiendo un periodo refractario en la producción de testosterona para posteriormente producirse el ascenso de ella bien porque cede el bloqueo enzimático, bien por efecto trófico del HCG o porque los receptores para la HCG que

habian disminuido por interiorización en la celula (HSUEH y cols 1976) vuelven a aparecer. Otra razón esgrimida es que puedan existir alteraciones en el sistema de acoplamiento (SAEZ y cols 1978) y que pasada esta fase puedan aumentar por el fenomeno de la autorregulación testicular (HEBER y SWERDLOFF, 1981).

----o o o----

En inyecciones de HCG intravenosas con medida de testosterona en efluente venoso testicular, se ha comprobado efectivamente (TAMM, 1981) que a los pocos minutos se detecta un gran incremento de testosterona en vena espermatica. Sin embargo al diluirse esta testosterona en la sangre circulante, dicho incremento queda practicamente borrado. Como tambien se incrementan los niveles de estradiol, estos podrian ser los responsables del proceso de bloqueo antes mencionado, durante el cual se acumulan gran cantidad de precursores, que al "desbloquearse" el testiculo da lugar a las 60 horas a un incremento mucho mas alto de testosterona, que acarrea su elevación en la sangre periferica.

Uno de los precursores, la 17-OH-progesterona puede observarse como no solo se acumula en el testiculo sino que tambien se secreta, detectandose su elevación a las 24-36 horas del estimulo.

Segun estos hechos la administración de inyecciones repetidas de HCG a la hora de realizar un estimulo, no parece ser un hecho muy racional, dado que se potencia esa insensibilidad testicular, bien por la despoblación de los receptores o bien por la existencia del período refractario que ocurre cuando se administra una nueva inyección de HCG 48 horas despues de la primera.

Ademas en nuestros resultados se puede comprobar que los estimulos logrados con una sola inyección de 2.500 U.I. de HCG son similares a los encontrados con las inyecciones diarias de la misma dosis y muy superiores a los logrados con 5.000 U.I.

Por todo ello se puede inferir que la prueba de estimulación testicular con una sola inyección es preferible a la inducida con inyecciones repetidas. Además y teniendo en cuenta que, si consideramos la testosterona plasmática como parametro a valorar, la respuesta mas evidente oscila entre las 60 y 72 horas, y que con hacer una determinación basal y una unica extracción de sangre a las 72 horas (tercer día) desde el punto de vista clínico tendremos datos mas que suficientes para la valoración de la reserva testicular de un sujeto.

Este hecho tiene una serie de connotaciones practicas y aspectos sociales.

Hasta ahora en general las pruebas de estimulo se realizaban en medio hospitalario, con el enfermo ingresado, dado que había administrar la dosis que utilizaba cada grupo a diario, con extracciones previas diarias a la inyección intramuscular de HCG, que por otro lado aportaban poca información, puesto que a las 24 y 48 horas la testosterona no se eleva por los argumentos especificados anteriormente, y partir de las 72 horas tampoco nos daba una información superior a la reportada el tercer día.

Si tenemos en cuenta el gasto de cama y día que supone el enfermo ingresado para realizar esta prueba, además de la incomodidad para el enfermo, pensamos que se produciría un importante ahorro en la economía de nuestros medios hospitalarios.

Concluimos diciendo que esta prueba puede ser realizada ambulatoriamente de la siguiente manera

DIA 0: * Extracción a - 15 minutos y 0 minutos del comienzo de la prueba, para extracción de 5 cc de sangre cada vez, con los que se hace un "pool" para determinar testosterona (se obvia en parte la secreción episódica).

* A continuación se inyecta por vía intramuscular 2.500 U.I. de HCG.

DIA 3: * Extracción de 5 cc de sangre a - 15 y 0 minutos para hacer un "pool" y determinación de testosterona plasmática.

También se puede realizar esta prueba determinando glucuronato de testosterona en orina de 24 horas o 17-OH-progesterona, aunque en este caso habría que hacer la extracción a las 48 horas.

No obstante creemos que la determinación de testosterona plasmática es la que nos aporta un mejor índice de la función testicular.

Apoyamos estos supuestos en la utilización clínica de la prueba que hemos realizado en 27 pacientes, a los que dividimos en 3 grupos según tuvieran las gonadotrofinas elevadas, bajas o normales y cuya representación gráfica de estas pruebas se observa en la Fig. C-16.

178

E. CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

- 1.- LOS VALORES BASALES DE TESTOSTERONA PLASMATICA OBTENIDOS EN NUESTROS CONTROLES ($\bar{x} = 525 \pm 129$) Y DE GLUCURONATO DE TESTOSTERONA URINARIO ($\bar{x} = 164 \pm 51$) SON SIMILARES A LOS ENCONTRADOS POR LA MAYORIA DE LOS AUTORES EN LA LITERATURA.
- 2.- LA DETERMINACIÓN BASAL DE TESTOSTERONA PLASMATICA Y GLUCURONATO DE TESTOSTERONA URINARIO SON UNOS INDICES ORIENTATIVOS DE LA FUNCIÓN DE LAS CELULAS DE LEYDIG, PERO NO SON SUFICIENTES EN MUCHOS CASOS PARA HACER UN DIAGNOSTICO DEFINITIVO EN PATOLOGÍA TESTICULAR.
- 3.- LAS PRUEBAS DE ESTIMULO CON HCG DAN LUGAR A UNA RESPUESTA HORMONAL DEL TESTICULO DETECTANDOSE ELEVACIONES TANTO EN LA TESTOSTERONA PLASMATICA COMO EN EL GLUCURONATO DE TESTOSTERONA EN ORINA DE 24 HORAS. LA RESPUESTA ES MAS BRILLANTE EN LA TESTOSTERONA PLASMATICA, AUNQUE LA GT URINARIA TAMBIÉN SE ELEVA SIGNIFICATIVAMENTE.
- 4.- ESTA PRUEBA DE ESTIMULO CON HCG NOS SIRVE PARA:
 - DETERMINAR LA PRESENCIA DE TEJIDO TESTICULAR
 - ESTABLECER LA RESERVA FUNCIONAL DE LAS CELULAS DE LEYDIG.
- 5.- LA RESPUESTA AL ESTIMULO CON HCG NO ES INSTANTANEA, SINO QUE EN TODOS LOS CASOS REQUIERE UN MINIMO DE 48-60 HORAS PARA MANIFESTARSE, INDEPENDIENTEMENTE DE LA PAUTA Y DOSIS ADMINISTRADA.
- 6.- EN EL ESTUDIO COMPARATIVO DE VARIAS DOSIS DE HCG CON PAUTAS DE ADMINISTRACIÓN DIARIA, LA MAYOR RESPUESTA DE LA TESTOSTERONA PLASMATICA SE CONSIGUE CON 2.500 U.I. LE SIGUE EN IMPORTANCIA LA RESPUESTA A 1.000 U.I. Y LA MENOR RESPUESTA SE DA CON 5.000 U.I. ESTO PUEDE SER DEBIDO A LA COMPETICIÓN ENTRE LOS EFECTOS TROFICOS Y LA INSENSIBILIZACIÓN DE LA CELULA DE LEY-

DIG QUE DETERMINAN LAS DOSIS ALTAS DE HCG CIRCULANTES. EN EL CASO DE LAS 2.500 U.I. PARECE QUE EL EFECTO TROFICO ES MAS INTENSO QUE LA DESENSIBILIZACIÓN, MIENTRAS QUE CON 5.000 U.I. PRIMA ESTA ULTIMA PROPIEDAD.

- 7.- LAS PAUTAS DE ADMINISTRACIÓN ALTERNA DAN LUGAR A UNA RESPUESTA DE LA T PLASMATICA MUCHO MAS POBRE QUE CON LA ADMINISTRACIÓN DIARIA EN TODOS LOS CASOS.
- 8.- EL GT URINARIO DA RESPUESTAS SIMILARES EN TODAS LAS DOSIS EN LAS PAUTAS DE ADMINISTRACIÓN DIARIA Y SON ALGO INFERIORES EN LAS PAUTAS DE ADMINISTRACIÓN ALTERNA, PERO CON RESPUESTAS TAMBIÉN MUY HOMOGENEAS.
- 9.- LA ADMINISTRACIÓN DE UNA UNICA DOSIS DE 2.500 U.I. DE HCG PRODUCE UNA RESPUESTA DE TESTOSTERONA PLASMATICA SIMILAR A LA CONSEGUIDA CON 2.500 U.I. ADMINISTRADAS DIARIAMENTE, EVITANDO SE DE ESTA MANERA AL PARECER EN GRAN MEDIDA EL FENOMENO DE INSENSIBILIDAD TESTICULAR QUE OCURRE CON LAS DOSIS RÉPETIDAS.
- 10.- LA MAXIMA RESPUESTA DE LA T CON ESTA DOSIS UNICA SE CONSIGUE ENTRE LAS 60 Y 72 HORAS DE LA INYECCIÓN.
- 11.- LA RESPUESTA DE LA 17-HIDRÓXI-PROGESTERONA AL ESTIMULO CON HCG ES MAS PRECOZ EN EL TIEMPO (SE OBSERVA UNA MAYOR ELEVACIÓN ENTRE LAS 24-30 HORAS) QUE LA DE LOS NIVELES DE LA TESTOSTERONA PLASMATICA, INDICANDO PROBABLEMENTE LA EXISTENCIA A ESTE NIVEL DE UN BLOQUEO PARCIAL DE LA ESTEROIDOGENESIS EN LA CELULA DE LEYDIG.
- 12.- LA ADMINISTRACIÓN DE UNA DOSIS UNICA DE 2.500 U.I. DE HCG EN PATOLOGÍA TESTICULAR, NOS CONFIRMA SU UTILIDAD EN LA DIFERENCIACIÓN DE LOS HIPOGONADISMOS PRIMARIOS DE LOS DE ORIGEN ALTO (SECUNDARIOS Y TERCARIOS) Y DE LOS NORMALES.
- 13.- LA UTILIZACIÓN DE UNA DOSIS UNICA CON DOS TOMAS DE SANGRE EN

CONDICIONES BASALES Y OTRAS DOS A LOS TRES DIAS REPRESENTA UNA GRAN COMODIDAD PARA EL ENFERMO Y PARA EL PERSONAL SANITARIO, NOS APORTA UNA INFORMACIÓN PRECISA DESDE EL PUNTO DE VISTA CLINICO DE LA CAPACIDAD DE RESPUESTA HORMONAL DE LAS CELULAS DE LEYDIG.

- 14.- ESTA PAUTA REPRESENTA ADEMAS UN CONSIDERABLE AHORRO ECONOMICO Y SOCIAL, DADO QUE NO ES NECESARIA LA HOSPITALIZACIÓN DEL ENFERMO, PUDIENDO REALIZARSE LA PRUEBA DE FORMA AMBULATORIA.

F. BIBLIOGRAFIA

ABEYARATNE, M.R., AHERNE, W.A. and SCOTT, J.E.S.

The varishing testis.

Lancet 2: 882, 1969

ALEXANDER, N.J.

Sperm antibodies and infertility. Male infertility.

Werkup. Treatment and Research. New York. Grune & Stratton, pp. 123, 1977

ALEXANIAN, R.

Eritropoietin and erithropoiesis in anaemic man following androgens.

Blood 33: 564, 1969

ANDERSON, R.M. and LIAO, S.

Selective retention of DHT by prostatic nuclei.

Nature 219: 277, 1968

ANDERSON, D.C., MARCHALL, J.C., YOUNG, J.L. and FRASER, T.R.

Stimulations tests of pituitary Leydig cells function in normal male subjects and hypogonadal men.

Clin. Endocrinol. (Oxf.) 1: 127, 1972

ARISTOTELES

Historia Animalium, translated by R. Creswell.

London: Bohn book IX, chap. 37, 1862

BABA, Y., ARIMURA, A. and SHCALLY, A.V.

Studies on the properties of hypothalamic luteinizing hormone releasing hormone.

J. Biol. Chem. 246: 7581, 1971

BABA, Y., MATSUO, H. and SCHALLY, A.V.

Structure of the porcine LH and FSH releasing hormone. II. Confirmation to the proposed structure by conventional sequential analyses.

Biochem. Biophys. Res. Comm. 44: 459, 1971

BAKER, H.W.G., BREMMER, W.J., BURGER, H.G., DE KRETZER, D.M.,
AUSMA DULMANIS, EDDIE, L.W., HUDSON, B., KEOG, E.J., LEE, V.W.K.
and RENNIE, G.C.

Testicular control of follicle-stimulating hormone secretion.

Rec. Prog. Horm. Res. 32: 429, 1976

BAKER, H.W.G., EDDIE, L.W., HIGGINSON, R.E., HUDSON, B. and NIALL,
H.D.

Testicular inhibin.

Proceedings of the VI International Congress of Endocrinology,
Melbourne, Australia, pp. 251, 1980

BAIRD, D.T., GALBRAITH, A., FRASER, I.S. and NEWSAN, J.E.

The concentration of oestrone and oestradiol -17-B in spermatic
venous blood in man.

J. Endocrinol. 57: 285, 1973

BALLIE, A.H., FERGUSON, M.M. and HART, D.M.

Developments in steroid histochemistry.

New York Academic, 1966

BARDIN, C.W., ROSS, G.T., RIFKIND, A.B., GARGILLE, C.M. and LIP-
SETT, M.B.

Studies of the pituitary Leydig cells axis in young men with hypo-
gonadotropic hypogonadism and hyposmia: comparison with normal
men, prepubertal boys and hypopituitary patients.

J. Clin. Invest. 48: 2046, 1969

BELL, J.B.G. and LACY, D.

Studies on the structure and function of the mammalian testis.

III. Proceedings of the Royal Society of London B. 176: 433, 1974

BESSER, G.M., PARKE, L., EDWARDS, C.R.W., FORSYTH, I.A. and MC
NEILLY, A.S.

Galactorrhea: Successful treatment with reduction of plasma prolactin levels by bromocryptine.
Br. Med. J. 3: 669, 1972

BONGIOVANNI, A.M.
The adrenogenital syndrome with deficiency of 3- β -Hydroxysteroid dehydrogenase.
J. Clin. Invest. 41: 2086, 1964

BOTELLA LLUSIA, J. and PURAS MUÑOZ, A.
Actas de la Sociedad Española para el estudio de la Esterilidad.
Tomo I, pp. 268, Madrid, 1954

BOVIN, P. and ANCEL, P.
Recherches sur les cellules interstitielles du testicule des mammifères.
Arch. Zool. Exptl. Gen. 1: 437, 1903

BOURNE, G.A., REGIANI, S., PAYNE, A.H. and MARSHALL, J.C.
Testicular Gn-RH receptors-Characterization and localization on interstitial tissue.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 51: 407, 1980

BOWEN, P., LEE, C.S., MIGEON, C.J., KAPLAN, N.W., MC KUSIEC, V.A. and REINFESTEIN, E.C.
Heredity Male Pseudohermaphroditism with hypogonadism, hypospadias and Gynecomastia: Reinfeinstein's syndrome.
Ann. Intern. Med. 62: 252, 1965

BOWERS, C.Y., CURRY, B.L., JOHANSON, K.N.G. and FOLKERS, K.
Biological evidence that separate hypothalamic hormones regulate the follicle stimulating and Luteinizing hormone.
Biochemical and Biophysical Research Communications 50: 20, 1973

BRADY, R.O.
Biosynthesis of radioactive testosterone in vitro.

J. Biol. Chem. 193: 145, 1951

BROCHOUSKY, N. and WILSON, J.D.

The conversion of testosterone to 5- α -androstan-17 β -ol-3-one by rat prostate "in vivo" and "in vitro".

J. Biol. Chem. 243: 2012, 1968

BUNGE, R.G. and BRADBURY, J.T.

Newer Concepts of the Klinefelter's syndrome.

J. Urol. 76: 755, 1956

CAMPBELL, H.J., PEVER, G., GARCIA, J. and HARRIS, G.W.

The infusion of brain extracts into the anterior pituitary gland and secretion of gonadotrophic hormone.

J. Physiol. 157: 20, 1961

CARGILLE, C.H., ROSS, G.T. and BARDIN, C.W.

Clomiphene and Gonadotrophin in men.

Lancet 2: 1298, 1968

CASARES PONCE, H. and BOTELLA LLUSIA, J.

Test de progresión espermática.

Arch. Med. Exp. Madrid 16: 459, 1953

CATT, K.J., BAUKAL, A.J., DAVIES, T.F. and DAFU, M.L.

Luteinizing hormone-releasing hormone-induced regulation of gonadotropin and prolactin receptors in the rat testis.

Endocrinology 104: 14, 1979

CATT, K.J., HARWOOD, J.P., AGUILERA, G. and DUFU, M.L.

Hormonal regulation of peptide receptors and target cell responses.

Nature 280: 109, 1979

CATT, K.J., HARWOOD, J.P., CLAYTON, R.N., DAVIES, T.F., CHAN, V.,

KATIKINENI, M., NOZU, K. and DUFU, M.L.

Regulation of peptide hormone receptors and gonadal steroidogenesis.

Rec. Prog. Horm. Res. 36: 557, 1980

CHAVES CARVALLO, E. and HAYLES, A.B.

Ullrich Turner syndrome in the male: Review of the Literature and report a case with lymphocytic thyroiditis.

Mayo Clin. Proc. 41: 843, 1966

CHRISTENSEN, A.K.

Leydig Cells.

In Hamilton D.W. and Greep R.O. (ed.): Handbook of Physiology Section 7, vol. 5, Washington D.C. American Physiological Society pp. 57, 1975

CIGORRAGA, S., DUFAU, M.L. and CATT, K.J.

Regulation of luteinizing hormone receptors and steroidogenesis in gonadotropin-desensitized leydig cells.

J. Biol. Chem. 253: 4297, 1978

CIGORRAGA, S., SORRELL, S., BATOR, J., CATT, K.J. and DAFAU, M.L.

Estrogen dependence of a gonadotropin-induced steroidogenic lesion in the rat testicular Leydig cells.

J. Clin. Invest. 65: 699, 1980

CLERMONT, Y.

Renewal of spermatogonia in man.

Am. J. Anat. 118: 509, 1966

CLERMONT, Y. and BUSTOS OBREGON, E.

Reexamination of spermatogonial renewal in the rat by means of seminiferous tubules mounted "in toto".

Am. J. Anat. 122: 237, 1968

CLERMONT, Y. and LEBLOND, C.P.

Differentiation and renewal of spermatogonia in the monkey Maca-

cus rhesus.

Am. J. Anat. 104: 237, 1959

CLERMONT, Y. and LEBLOND, C.P.

Renewal of spermatogonia in the rat.

Am. J. Anat. 93: 475, 1953

DAVID, K., DINGEMANSE, FREUD, J. and LAQUEUR, E.

Veber krystallinisches mamliches herson and moden (Testosteron)
wirksamer ans Harn oder aus cholesterin bereitetes.

Androsteron. Z. Physiol. Chem. 233: 281, 1953

DE JONG, F.H., HEY, A.M. and VAN DER MOLEN, H.J.

Oestradiol 17-B and testosterone in rat testis tissue: Effects of
gonadotropins localization and production in vitro.

J. Endocrinol. 60: 409, 1974

DE JONG, F.H., HEY, A.M. and VAN DER MOLEN, H.J.

Effects of gonadotrophins on the secretion of estradiol-17-B and
testosterone by the rat testis.

J. Endocrinol. 57: 277, 1973

DEY, F.L.

Changes in ovaries and uteri in guinea pig with hypothalamic
lesions.

Am. J. Anat. 69: 61, 1941

DUFAU, M.L. and CAT, K.J.

Gonadotropin receptors and regulation of steroidogenesis.

Vitam. Horm. 36: 461, 1978

DUFAU, M.L., CIGORRAGA, S., BAUKAL, A. and CATT, K.J.

Steroidogenic lesions in LH-RH/gonadotropin-desensitized Leydig
cells.

Clin. Res. 27: 448, 1979

DUFAU, M.L., CIGORRAGA, S., BAUKAL, A.J., SORREL, S., BATOR, J.M.
NEUBAVER, J.F. and CATT, K.J.

Androgen biosynthesis in Leydig cells after testicular desint-
tization by luteinizing hormone-releasing hormone and human chorio-
nic gonadotropin.

Endocrinology 105: 1314, 1979

EPSTEIN, C.J., MARTIN, G.M., SCHULTZ, A.L. and MOTULSKY, A.G.
Werner's Syndrome.

Medicine 45: 177, 1966

EWER, R.W.

Familial monotropic pituitary gonadotrophin insufficiency.

J. Clin. Endocr. Metab. 28: 783, 1968

FISHMAN, L.M., SARFATY, G.A., WILSON, M. and LIPPESTT, M.B.

The role of the testis in oestrogen production.

Ciba Found. Colloq. Endocrinol. 16: 156, 1967

FOREST, M.G., LECOQ, A. and SAEZ, J.M.

Kinetics of human chorionic gonadotropin-induced steroidogenic
response of the human testis. II. Plasma 17 α -hidroxyprogesterone,
 Δ^4 Androstenedione, estrone and 17B-Estradiol: Evidence for the
action of human chorionic gonadotropin on intermediate enzymes
implicated in steroid biosynthesis.

J. Clin. Endocrinol. Metab. 49: 284, 1979

FOREST, M.G.

Use of higly specific antibodies against 17- α -OH- progesterone
in a simplified non chromatographic RIA and in the simultaneous
determination of four sex hormones in human plasma.

Horm. Res. 7: 260, 1976

FORTI, G., PAZAGLI, M., CALABRESI, E., FIORELLI, G. and SERIO, M.
RIA of plasma testosterone.

Clin. Endocrinol. 3: 5, 1974

FRANCHIMONT, P. and DEMOULIN, A.

Control of the secretion of the gonadotrophins for the inhibine.
Act. Endocr. Supp. 225: 469, 1979

FRANCHIMONT, P., MILLET, D., VENDRELY, E., LETAWE, J., LEGROS, J.
J. and NETTER, A.

Relationship between spermatogenesis and serum gonadotrophin levels in azoospermia and oligospermia.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 34: 1003, 1972

FURUYAMA, S., MAYER, D.M. and NUGENT, C.A.

A RIA for plasma testosterone.
Steroids 12: 631, 1970

GLASS, A.R. and VIGERSKY, R.A.

Resensitization of testosterone production in men after Human chorionic gonadotrophin-induced desensitization.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 51: 1395, 1980

GALLAGHER, T.F. and KOCH, F.C.

The testicular hormone.
J. Biol. Chem. 84: 495, 1929

GIROUD, A.

La fonction spermatogenetique du testicule humain.
Edit. Masson, Paris, 1958

GOLDZIEMER, J.W. and WILLIAMS, M.C.

Urinary testosterone glucuronide as a measure of endogenous testosterone production.
Act. Endocrinol. 67: 371, 1971

GRUMBACH, M.M. and VAN WYK, J.J.

Disorders of sex differentiation.
In. Williams R.M. Ed. Textbook of Endocrinology, W.B. Saunders Co.
pp. 423, 1974

HAKEN, P.C.S., CLARKE, M. and BRESLIN, M.
Psychopathology in Klinefelter's syndrome.
Psychosom. Med. 26: 207, 1964

HALASZ, B. and GORSKI, R.A.
Gonadotrophic hormone secretion in female rats after partial or
total interruption of neural afferents to the medial basal hypo-
thalamus.
Endocrinology 80: 608, 1967

HALASZ, B. and PUPP, L.
Hormones secretion of the anterior pituitary gland after physical
interruption of all nervous pathways to the hypophysiotropic
area.
Endocrinology 77: 553, 1965

HALL, P.F. and YOUNG, D.G.
Site of action of trophic hormones upon the biosynthetic pathways
to steroid hormones.
Endocrinology 82: 559, 1968

HALL, P.F., IRBY, D.C. and DE KRETZER, D.M.
Conversion of cholesterol to androgens by rat testis: comparison
of interstitial cells and seminiferous tubules.
Endocrinology 84: 488, 1969

HAMILTON, C.R., SCULLY, R.E. and KUMAN, B.
Hypogonadotropinism in Prader-Willi Syndrome. Induction of pu-
berty and spermatogenesis by clomiphene citrate.
Am. J. Med. 52: 322, 1972

HALL, P.F.
Testicular hormones: Synthesis and control.
Endocrinology, ed. de Groot and alls, Grune & Stratton, pp. 1511,
1979

HANSSON, V., RITZEN, E.M., FRENCH, F.S. and NAYFEH, S.N.

Androgen transport and receptor mechanism in testis and epididymis.

Handbook of Physiology, Section 7, Vol. 5, Washington D.C. American Physiological Society, pp. 173, 1975

HAOUR, F. and SAEZ, J.M.

Regulation of HCG gonadotropin-receptor in testicular Leydig cells: Evidence for a down regulation.

Mol. Cell. Endocrinol. 7: 17, 1977

HAOUR, R., SANCHES, P., CATHIARD, A.M. and SAEZ, J.M.

Gonadotropin receptor regulation in hypophysectomized rat Leydig cells.

Biochem. Biophys. Res. Comm. 81, 547, 1978

HARMS, P.G., OJEDA, S.R. and MC CANN, S.M.

Prostaglandin-induced release of pituitary gonadotrophins: central nervous system and pituitary sites of action.

Endocrinology 94: 1459, 1974

HARPER, P., PENNY, R., FOLEX, T.P., MIGEON, C.J. and BLIZZARD, R.M.

Gonadal function in males with myotonic dystrophy.

J. Clin. Endocrinol. 35: 852, 1972

HARRIS, G.W.

Neural control of the pituitary gland.

London. Edward Arnold & Co. 1955

HEBER, D. and SWERDLOFF, R.

Down-regulation of pituitary gonadotropin secretion in post-menopausal females gonadotropin-releasing hormone regulation.

J. Clin. Endocr. Metab. 52: 171, 1981

HELLER, C.G. and CLERMONT, Y.

Spermatogenesis in man and estimate of its duration.
Science 140: 184, 1963

HENNAM, J.F., COLLINS, W.P. and SOMMERVILLE, I.F.
Radioimmunoassay of urinary testosterone glucuronoside.
Steroids 21: 285, 1973

HENNAM, J.F., COLLINS, W.P. and SOMMERVILLE, I.F.
Radioimmunoassay of urinary testosterone glucuronoside.
Steroids 28: 13, 1976

HILSCHER, B.W. and NAURER, W.
Autorradiographische Untersuchungen über den Modus der Prolife-
ration und Regeneration des Samen-epitels der wistarratte.
Z. Zellforsch Mikroskop Anat. 94: 593, 1969

HORTON, R.
Testicular steroid secretions, transport and metabolism.
Endocrinology. Edit. de Groot and alls, Grune & Straton, pp. 1521
1979

HSUEH, A.J.N., DUFAU, M.L. and CATT, K.J.
Regulation of luteinizing hormone receptor in interstitial cells
by gonadotropins.
Biochem. Biophys. Res. Comm. 72: 1145, 1976

HSUEH, A.J.W., DUFAU, M.L. and CATT, K.J.
Gonadotropin induced regulation of luteinizing hormone receptors
and desensitization of testicular 3'-5'-cyclic AMP and testoste-
rone responses.
Proc. Nat. Acad. Sci. 74: 592, 1977

HSUEH, A.J.W.
Gonadotropin stimulation of testosterone production in primary
culture of adult rat testis cells.
Biochem. Biophys. Res. Comm. 97: 506, 1980

HUHTANIEMI, I., MARTIKAINEN, M. and TIKKALA, L.
HCG-induced changes in the number of rat testis LH-HCG receptors.
Mol. Cell. Endocrinol. 11: 43, 1978

HUHTANIEMI, I., RAJANIEMI, H., MARTIKAINEN, H. and TIKKALA, L.
Autorregulation of LH/HCG receptors and catabolism of HCG in rat
testis.
J. Androl. Suppl. 2, 276, 1978

HUHTANIEMI, I. and MARTIKAINEN, H.
Rat testis LH/HCG receptors and testosterone production after
treatment with Gn-RH.
Mol. Cell. Endocrinol. 11: 199, 1978

HUHTANIEMI, I., LEINONEN, P., HAMMOND, G.L. and VIHKO, R.
Effect of oestrogen treatment on testicular LH/HCG receptors and
endogenous steroids in prostatic cancer patients.
Clin. Endocrinol. 13: 561, 1980

IGARASHI, M. and MC CANN, S.M.
A hypothalamic FSH hormone releasing factor.
Endocrinology 74: 446, 1964

IMPERATO-MC GINLEY, J., GUERRERO, L., GAUTIER, T. and PETERSON,
R.E.
An unusual inherited form of male psuedohermaphroditism. A model
of 5- α -reductase deficiency.
J. Clin. Invest. 53: 35, 1974

ISOJIMA, S., LI, T. and ASHITAKA, Y.
Immunologie analysis of sperm inmovilizing factor found in sera
of women with unexplained sterility.
Am. J. Obstet. Gynecol. 101: 677, 1968

JOEL, C.A.
Estudios sobre el esperma humano.

Edit. Cientifico Medica. pp. 2, 1959

JONES, T.M., FANG, V.S., LANDAU, R.L. and ROSENFELD, R.
Direct inhibition of Leydig cell function by estradiol.
J. Clin. Endocr. Metab. 47: 1368, 1978

DE JONG, G.H., HEY, A.H. and VAN DER MOLEN, M.J.
Effect of gonadotrophins on the secretion of stradiol-17-B and
testosterone by the rat testis.
J. Endocrinol. 57: 277, 1973

KALLMAN, F., SCHONFELD, W.A. and BARRERA, S.E.
The genetic aspects of primary Eunuchoidism.
Am. J. Ment. Defic. 48: 203, 1944

KAMBERI, I.D., MICAL, R.S. and PORTER, J.C.
Hypophysial portal vesel infusion: in vivo demostration of LRF,
FRF and PIF in pituitary stalk plasma.
Endocrinology 89: 1042, 1971

KELLIE, A.E., SAMUEL, V.K., RILEY, W.J. and ROBERTSON, D.M.
Steroid glucuronide-BSA complexes as antigens, the RIA of steroid
conjugates.
J. Steroid. Biochem. 3: 275, 1972

KEOGH, E.J., LEE, V.W.K., RENNIE, G.C., BURGER, H.G., HUDSON, B.
and KRETZER, D.M.
Selective supresion of FSH by testicular extracts.
Endocrinology 98: 997, 1976

KIRSHNER, M.A. and COFFMAN, G.D.
Measurement of plasma testosterone and Δ^4 androstenedione using
electron capture Gas Liquid Chromatography.
J. Clin. Endocr. Metab. 28: 1347, 1968

KIRSCHNER, N.A., LIPSETT, M.B. and COLLINS, D.R.

Plasma ketosteroid and testosterone in man: a study of the pituitary testicular axis.

J. Clin. Invest. 44: 657, 1965

KLINEFELTER, J.F., REINFESTEIN, E.C.Jr. and ALBRIGHT, F.

Syndrome characterized by gynecomastia, aspermatogenesis without A-Leydigism and increased excretion of follicle-stimulating Hormone.

J. Clin. Endocrinol. 2: 615, 1942

KNORR, D., BECKMANN, D., BIDLINGMAIER, F., HELMIG, F.J. and SIPPELL, W.G.

Plasma testosterone in male puberty II. HCG stimulation test in boys with hypospadias.

Acta Endocrinol. 90: 365, 1979

IABHSETWAR, A.P.

Neuroendocrine basis of ovulation in hamsters treated with prostaglandin PGF_2 .

Endocrinology 92: 606, 1973

LEBLOND, C.P. and CLERMONT, Y.

Espermiogenesis of rat mouse, hamster and quince pig revealed by the periodic acid-fuchsin sulfurous acid-technique.

Am. J. Anat. 90: 167, 1952

LEYDIG, F. von

Zur anatomie der mannlichen Geschlechtsorgane und Analdrusen der saigethiere.

2 Wiss. Zool. 2: 1, 1850

LEYDIG, F. von

Lehrbuch der Histologie des menschen und der tiere.

Frankfurt am Main, 1857

LINZELL, J.L. and SETCHELL, B.P.

The output of spermatozoa and fluid and the metabolism of,
the isolated perfused testis of the ram.
H. Physiol. (Lond) 195: 25, 1968

LIPSETT, M.

Steroid secretion by the testis in man.
The endocrine function of the human testis. Vol. 2. New York Academic, pp. 1, 1974

LIPSETT, M.B., WILSON, J.A., KIRSCHNER, S.G., KORENMAN, L.M.,
FISHMAN, G.A., SARFATY, G.A. and BARDIN, C.W.
Studies on Leydig cell physiology and pathology: secretion and metabolism of testosterone.
Recent. Prog. Horm. Res. 72: 245, 1966

LOISEL, G.

La graisses du testicule chez quelques mamiferes.
C.R. Soc. Biol. (Paris) 55: 1009, 1903

LONGCOPE, C., WIDRICH, W. and SAWIN, C.T.
The secretion of estrone and estradiol-17-B for human testis.
Steroid 20: 439, 1972

LOSTROM, A.J.

Hormonal Control of Spermatogenesis.
In Spitman, Lobe and Kirton (edit). Regulatory mechanisms of male reproductive physiology. Amsterdam. Excerpta Medica, pp. 13, 1976

MAESTRE DE SAN JUAN, A.

El siglo Medico 131: 211, 1856

MAHOUDEAU, J.A., VALCKE, J.C. and BRICAIRE, M.

Dissociated response of plasma testosterone and estradiol human chorionic gonadotropin in adult men.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 41: 13, 1975

MANGRINI, G., EBINER, J.R., EURCKHARD, P. and FELBER, J.P.
Study of the relationship between plasma prolactin levels and androgen metabolism in man.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 43: 944, 1976

MARSHALL, F.H.A. and VERNEY, E.B.
The occurrence of ovulation and pseudopregnancy in the rabbit as a result of central nervous stimulation.
J. Physiol. 86: 327, 1936

MARSHALL, F.H.A.
Sexual periodicity and the causes which determine it.
Philosophical transactions of the Royal Society, Serie B, 226: 423, 1936

MAURER, W., VOLKWEIN, V. and TAMM, J.
The effect of intravenously administered HCG on plasma levels at testosterone and dihydrotestosterone in normal male subjects.
Acta Endocrinol. (Kbh) 72: 615, 1973

MC CANN, S.M., TALEISNIK, S. and FRIEDMAN, H.M.
LH-releasing activity in hypothalamic extracts.
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 104: 432, 1960

MC CULLAGH, E.P., BECK, J.C. and SCHAFFENBURG, C.A.
A syndrome of eunuchoidism with spermatogenesis, normal urinary FSH and low normal ICSH. ("Fertile Ennuchs").
J. Clin. Endocrinol. 13: 489, 1953

MENDELSON, C., DUFAU, A. and CATT, K.
Gonadotropins binding and stimulation of cyclic adenosine 3'-5'-monophosphate and testosterone production in Isolated Leydig Cells.
J. Biol. Chem. 250: 8818, 1975

MIECHI, H.R., TURNER, D., GUITELMAN, A., APARICIO, N.J. and SCHWARSTEIN, L.

Pituitary-gonadal response to acute i.m. stimulation with clomiphene citrate in normal men.

J. Clin. Endocrinol. Metab. 40: 1114, 1975

MITTLER, J.J. and MEITES. J.

In vitro stimulation of pituitary FSH hormone release by hypothalamic extracts.

Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 117: 309, 1964

MORTIMER, C.H., BESSER, G.M., MC NEILLY, A.S. and GOLDIE, D.J.

Asynchronous pulsatile LH and FSH responses during LH-FSH-RH and TRH infusion.

J. Endocrinol. 59: 12, 1973

MULDER, E., BRINKMAN, A.O., LAMERS-STAAHLHOFEN, G.J. and VAN DER MOLEN, H.J.

Binding of estradiol by the nuclear fraction of rat testis interstitial tissue.

FEBS. Lett. 31: 131, 1973

MULDER, E., PETERS, M.J., VAN BEURDEN, W.M.O., GALDIERI, M.,

ROMMERTS, F.F.G., JANSZEN, F.H.A. and VAN DER MOLEN, H.J.

Androgen receptors in isolated cell preparations obtained from rat testicular tissue.

J. Endocrinol. 70: 331, 1976

NANKIN, H.R., LIN, T., MURONO, E., OSTERMAN, J. and TROEN, P.

Testosterone and 17-OH-progesterone responses in men to 3 h. LH-infusions.

Acta Endocrinol. 95: 110, 1980

NANKIN, H.R., MURONO, E., LIN, T. and osterman, J.

Morning and evening human Leydig cell responses to HCG.

Acta Endocrinol. 95: 560, 1980

NARMS, P.G., OJEDA, S.R. and MC CANN, S.M.

Prostaglandin induced release of pituitary gonadotropins central nervous system and pituitary areas of action.
Endocrinology 94: 1459, 1974

NAWAKOWSKI, H. and LENZ, W.
Genetic aspects in male hypogonadism.
Recent Prog. Horm. Res. 17: 53, 1961

NELSON, W.O. and HELLER, C.G.
Diseases of the reproductive system. The testis.
Annv. Rev. Med. 1: 179, 1951

OKBERG, E.F.
Duration of spermatogenesis in the mouse and timing of states of the cycle of the seminiferous epithelium.
Am. J. Anat. 99: 507, 1957

PASQUALINI, P.Q. and BUR, G.
Síndrome hipoandrogénico con gametogenesis conservada. Clasificación de la insuficiencia testicular.
Rev. Asoc. Med. Argent. 64: 6, 1950

PAYNE, A.H., WONG, K.L. and VEGA, M.M.
Differential effects of single and repeated administrations of gonadotropins on Leuteinizing hormone receptors and testosterone synthesis in two populations of Leydig cells.
J. Biol. Chemistry 255: 7118, 1980

PAZZAGLI, M., BORRELLI, E., FORTI, G. and SERIO, M.
Dihydrotestosterone in human spermatic venous plasma.
Acta Endocrinol. 76: 388, 1974

PERHEENTUPA, J.A., DESSYPRIS, A. and ADLERCREUTZ,
Gonadotropin test of the functional capacity of Leydig cells in normal and hypogonadal boys.
J. Clin. Endocrinol. 1: 141, 1972

PETERS, M.

Über die feinere Innervation de Hodens insbesondere des intersti-
tiellen Gewebes und der hedenkanalchen beim Menschen.

Act. Neuroveg. (Wein) 15: 235, 1957

PRADER, A. and ANDERS, G.J.P.A.

Zur genetik der Kongenitalen lipoid-hiperplasie der Nobennieren.

Helvt. Paediatric. Acta. 17: 285, 1962

PRADER, A., LABHART, A. and WILLI, H.

Ein syndrome von adipositas, Leinwuchs, Krytorchismus and oligo-
phrenia nach Myatomie artigen im Neugeborenenalter.

Schweiz. Med. Wschr. 26: 1260, 1956

POPA, G. and FIELDING, U.

A portal circulation from the pituitary to hypothalamic region.

Journal At. Anatomy 65: 88, 1930

POPJAK, G. and CORNFORTH, J.W.

Subtrate stereochemistry in squalene biosynthesis.

Biochem. J. 101: 553, 1966

PURVIS, K., TORJESEN, P.A., HAUG, E. and HANSSON, J.

HCG-spression of LH-receptors and responsiveness of testicular
tissue to HCG.

Mol. Cell. Endocrinol. 8: 73, 1977

PURVIS, K., CLAUSEN, O.P.F. and HANSSON, V.

Androgen effects on rat Leydig cells.

Biol. Reprod. 20: 304, 1979

RASMUSSEN, D.T.

Inervation of the hypophysis.

Endocrinology 23: 263, 1938

REGAUD, C.

Etude sur l'estructure des tubes seminiferes et sur la spermatogenese chez les mamiferes.

Arch. Anat. Microscop. Morphol. Exptl. 4: 101, 1901

REINFRANK, R.F. and NICHOLS, F.L.

Hypogonadotropic Hypogonadism in the Lawrence Moon Syndrome.

J. Clin. Endocrinol. Metab. 24: 48, 1964

RIVAROLA, M.A., BERGADA, C. and MC CULLEN, M.

HCG-stimulation in prepubertal boys with cryptorchidism in bilateral anorchia and in male pseudohermaphroditism.

J. Clin. Endocrinol. Metab. 31: 526, 1970

ROLSHOVEN, E.

Zur Fraque des "Alterns" der generativen elemente in den Hodenkanalchen.

Anat. Anz. 91: 1, 1941

ROTH, A.A.

Familial Ennuchoidism: The Lawrence-Moon - Bield Syndrome.

J. Urol. 57: 427, 1947

RUIZ GONZALEZ, M.C.

Fraccionamiento de metabolitos corticosteroides por cromatografia de gases.

Arch. Fac. Med. Madrid 30: 1971, 1976

SANTEN, R.J. and PAULSEN, C.A.

Hypogonadotropic Ennuchoidism. I. Clinical Study of mode of inheritance.

J. Clin. Endocrinol. Metab. 36: 47, 1973

SAEZ, J.M. and BERTRAND, J.

Studies on testicular function in children: plasma concentrations of testosterone, dehidroepiandrosterone and its sulfate before and after stimulation with human chorionic gonadotropin.

Steroids 12: 749, 1968

SAEZ, J.M., HAOUR, F. and CATHIARD, A.M.

Early HCG-induced desensitization in Leydig cells.

Biochem. Biophys. Res. Comm. 81: 552, 1978

SAEZ, J.M., DE PERETTI, E., MORERA, A.M., DAVID, M. and BERTRAND, J.

Familial Male pseudohermaphroditism with ginecomastia due to a testicular 17-ketosteroid reductase defect I. Studies in vivo.

J. Clin. Endocrinol. Metab. 32: 604, 1971

SAEZ, J.M., FOREST, M.G., MORERA, A.M. and BERTRAND, J.

Metabolic clearance rate and production rate of testosterone and DHT in normal subjects during pregnancy and in hypothyroidism.

J. Clin. Invest. 51: 1226, 1972

SAEZ, J.M., HAOUR, G.E.P., TELL, P., GALLET, D. and SANCHEZ, P.

Human chorionic gonadotropin induced Leydig cell refractoriness to gonadotropin stimulation.

Mol. Pharmacol. 14: 1054, 1978

SAEZ, J.M. and FOREST, M.G.

Kinetics of human chorionic gonadotropin-induced steroidogenic response of human testis. I. Plasma testosterone: implications for human chorionic gonadotropin stimulation test.

J. Clin. Endocrinol. Metab. 49: 278, 1979

SCHALLY, A.V. and BOWERS, C.Y.

Purification of luteinizing hormone releasing factor from bovine hypothalamic.

Endocrinology 75: 608, 1964

SCHALLY, A.V., BABA, Y., ARIMURA, A., REDDING, T.W. and WHITE, W. F.

Evidence for peptide nature of LH and FSH releasing hormone.

Biochem. Biophys. Res. Comm. 42: 50, 1971

SCHALLY, A.U., ARIMURA, A., KASTIN, A.J., MATSUO, H., BABA, V.,
REDDING, T.W., NAIR, R.M.G., DEBELJUK, L. and WHITE, W.F.
Gonadotrophin releasing hormone: one polipeptide regulates secre-
tions of luteinizing and follicle stimulating hormones.
Science 173: 1036, 1971

SCHALLY, A.V., NAIR, R.M.G., REDDING, T.W. and ARIMURA, A.
Isolation of the luteinizing hormone and follicle-stimulating-hor-
mone-releasing hormone from porcine hypothalami.
J. Biol. Chem. 246: 7230, 1971

SCHALLY, A.V., BOWERS, C.Y., WHITE, W.F. and COHEN, A.J.
Purification and in vivo in vitro studies with porcine luteinizing
hormone releasing-factor (LRH).
Endocrinology 81: 77, 1967

SAVARD, K., DORFMAN, R.I. and POUTASSE, E.
Biogenesis of androgens in the human testis.
J. Clin. Endocrinology 12: 935, 1952

SERTOLI, E.
Dell'esistenza di particolari cellule ramificate nei canalicole
seminiferi del testicolo umano.
Morgagni 7: 31, 1865

SHARMA, D.C. and GABRILOVE, J.L.
Biosynthesis of testosterone and estrogens in vitro by testicular
tissue from patients with Klinefelter's Syndrome.
Acta Endocrinol. 66: 737, 1971

SHARPE, R.M.
HCG-induced decrease in availability of rat testis receptors.
Nature 264: 644, 1976

- SHIKITA, M., KAKIZAKI, H. and TAMAOKI, B.
The pathway of formation of testosterone from 3- β -hidroxi-pregn-5-en-20-one by rat testicular microsomes.
Steroid 4: 521, 1965
- SHOME, B. and PARLOW, A.F.
Human follicle stimulating hormone. First proposal for the Amino acid Sequence of the hormone specific B subunit. (h FSH-B).
J. Clin. Endocrinol. Metab. 39: 203, 1974
- SMALS, A.G.H., PIETERS, G.F.F.M., DRAYER, J.I.M., BOERS, G.H.J., BENRAAD, T.J. and KLOPENBORG, P.W.C.
Tamoxifen suppresses gonadotrophin induced 17- α -hidroxiprogesterone accumulation in normal men.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 51: 1026, 1980
- SMALS, A.G.H., PIETERS, G.F.F.M., KLOPPENBORG, P.W.C., LOZEKOOT, D.C. and BENRAAD, T.J.
Biphasic steroid response to single human chorionic gonadotropin administration in normal men.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 50: 879, 1980
- SMALS, A.G.H., PIETERS, G.F.F., LOZEKOOT, D.C., BENRAAD, T.J. and KLOPPENBORG, P.W.C.
Dissociated responses of plasma testosterone and 17-OH-progesterone to single or repeated human chorionic gonadotropin administration in normal men.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 50: 190, 1980
- SMITH, K.D. and RODRIGUEZ-RIGAU, L.J.
Laboratory evaluation of testicular function.
Endocrinology. Edit. de Groot and alls. Grune & Straton, pp. 1539, 1979
- SPARKES, R.S., SIMPSON, R.W. and PAULSEN, C.A.
Familial Hypogonadotropic Hypogonadism with Anosmia.

Arch. Intern. Med. 121: 534, 1968

STEINBERG, A., HEINDEL, J.J. and LINDSEY, J.N.
Isolation and culture of FSH responsive Sertoli cells.
Endocrine Comm. 2: 261, 1975

STEINBERGER, E.
Structural consideration of the male reproductive system.
Endocrinology, Edit. de Groot, Grune & Straton, pp. 1501, 1979

STEINBERGER, E.
Hormonal control of spermatogenesis.
Endocrinology, Edit. de Groot and alls. Grune & Straton, pp. 1535,
1979

STEWART-BENTLEY, M., ODELL, W. and HORTON, R.
The feed-back control of luteinizing hormone in normal men.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 38: 545, 1974

STEWART-BENTLEY, M. and HORTON, R.
Leydig cell function in Klinefelter's syndrome.
Metabolism 22: 875, 1973

TAMM, J., BUCHELER, E., VOLKWEIN, V. and MISCHKE, W.
Short-term response of testosterone, dehidrotestosterone, 5- α -
androstane-3- β -17- α -diol, testosterone-glucosiduronate and es-
tradiol-17 β as measured in the spermatic vein of human male sub-
jects after infusion of gonadotropins.
Hormone Res. 13: 150, 1980

TANNER, J.M., WHITEHOUSE, R.H., HUGHES, P.C.R. and VINCE, F.P.
Effect of human growth hormone treatment for 1 to 7 years on
growth of 100 children, with growth hormone deficiency. Low
Birthweight, inherited smallness Turner's syndrome and other com-
plaints.
Arch. Dis. Child. 46: 745, 1971

TELL, G.P., HAOUR, F. and SAEZ, J.M.

Hormonal regulation of membrane receptors and cell responsiveness: a review.

Metabolism 27: 1566, 1978

THORNER, M.O., MC NEILLY, A.S., HAGAN, C. and BESSER, G.M.

Long-term treatment of galactorrhea and hypogonadism with bromocryptine.

Br. Med. J. 2: 419, 1974

THORNER, M.O., EDWARDS, C.R.W., HANKER, J.P., ABRAHAM, G. and BESSER, G.M.

Prolactin and gonadotropin interaction in the male.

Troen, P. and Nankin, M. (edit.) The testis in normal and infertile men. Raven Press, New York, pp. 351, 1977

TRESGUERRES, J.A.F., TORRES, J. and MARTINEZ GUARRO, M.

Separación de estrogénos por cromatografía en columna. Su valoración por RIA.

I Reunión sobre normalización de técnicas de valoración y exploración en endocrinología. Sevilla, Julio 1974

TRESGUERRES, J.A.F., FERNANDEZ, M.D., FERNANDEZ GALAZ, M.C. y ORIOL BOSCH, A.

Determinación por RIA de la testosterona plasmática.

Rev. Iber. Endocr. 127: 23, 1975

TRESGUERRES, J.A.F., LISBOA, B.P. and TAMM, J.

A simple radioimmunoassay for the measurement of testosterone glucuronoside in unextracted urine.

Steroids 28: 13, 1976

TRESGUERRES, J.A.F., RODRIGUEZ, F.J., MANCHEÑO, E. and ORIOL BOSCH, A.

Hormonal responses to the oral glucose tolerance test.

J. Steroid. Biochem. 5: 380, 1974

TRESGUERRES, J.A.F., FERNANDEZ GALAZ, M.C., MARTINEZ GUARRO, M. y ORIOL BOSCH, A.

Efecto de la administración de PgF_2 y PgE_2 sobre la secreción de la LH en la rata.

Rev. Esp. Fisiol. 33: 205, 1977

TSURUHARA, T., DUFAU, M.L., CIGORRAGA, S. and KATT, K.J.

Hormonal regulation of testicular luteinizing hormone receptors: effects on cyclic AMP and testosterone responses in isolated Leydig cells.

J. Biol. Chem. 262: 9002, 1977

ULLRICH, O.

Turner's syndrome and status Bonnevie-Ullrich.

Am. J. Hum. Genetics 49: 179, 1949

VAN LEEVWENHOEK, A.

Observations de natis e semini genitali animalentis.

Phil. Trans. Roy. Soc. London. Ser. B. 12: 1040, 1979

VAN DER MOLEN, H.J., BRINKMAN, A.O., COOKE, B.A., DE JONES, F.H., ROMMERTS, F.F.G. and VAN DER VUSSE, G.J.

Biochemical function of isolated interstitial tissue and seminiferous tubules from rat testis.

In The Endocrine function of the Human testis, (Edit.) James, V. H.T., Serio, M., Martini, L. vol. I. pp. 533, 1973

VERMEULEN, A.

Evaluation of GLC techniques for the stimation of androgens.

Clin. Chim. Acta 34: 223, 1971

VERJANS, H.L., COOKE, B.A., DE JONG, F.H., DE JONG, C.M.M. and VAN DER MOLEN, H.J.

Evaluation of RIA for testosterone estimation.

J. Steroid. Biochem. 4: 665, 1973

VILAR, O.

Effect of cytostatic drugs on human testicular function.

In Male fertility and sterility (ed.) Mancini, R.E., Martini, L.
Academic Press, pp. 423, 1974

VIVANCO, F., GONZALEZ-CANCEDO, P. and RAMOS, F.

A simple clinical test for increasing the serum testosterone response to intravenous infusion of HCG.

Acta Endocrinol. (Kbh) 73: 790, 1973

VON EBNER, V.

Untersuchungen über den Bau der Samenkanälchen und die Entwicklung der Spermatozoiden bei den Säugetieren und beim Menschen.

Leipzig: Rollets, untersuchungen aus dem Institut für Physiologie und Histologie in Graz, pp. 200, 1871

WANG, C., REBAR, R.W., HOPPER, B.R. and YEN, S.S.C.

Functional studies of luteinizing hormone-Leydig cell-androgen axis: Exaggerated response in C-18 and C-21 testicular steroids to various modes of luteinizing hormone stimulation.

J. Clin. Endocrinol. Metab. 51: 201, 1980

WATSON, J.T.

A simplified determination of urinary testosterone utilizing column and gas-liquid chromatography.

J. Chromatog. 43: 339, 1964

WEINSTEIN, R.L., KELCH, L.P., JENNER, M.R., KAPLAN, S.L. and GRUMBACH, M.M.

Secretion of unconjugated androgens and oestrogens by the normal and abnormal human testis before and after human chorionic gonadotropin.

J. Clin. Invest. 53: 1, 1974

WINTER, J.S.D., TARASKA, S. and FAIMAN, C.

The hormonal response to HCG stimulation in male children and

adolescents.

J. Clin. Endocrinol. Metab. 34: 348, 1972

YANIMARA, T. and TROEN, P.

Studies of the human testis. I. Biosintetic parthways for androgen formation in human testicular tissue in vitro.

J. Clin. Endocrinol. Metab. 34: 783, 1972

ZACHMAN, M., VOLLMIN, J.A. and PRADER, D.

Steroid 17-20 desmolase deficiency: A new cause of male pseudo-hermaphroditism.

Clin. Endocrinol. 1: 369, 1972

ZELLWEGER, H. and SCHNEIDER, H.J.

Syndrome of hypotonia-hypomentia-hypogonadism-obesity (HHHO) or Prader-Willi Syndrome.

Am. J. Dis. Child. 115: 588, 1968

